(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2001年7月5日 (05.07.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/48188 A1

(51) 国際特許分類⁷: **C12N 15/09**, 1/15, 1/19, 1/21, 5/10, C07K 14/705, 16/28, C12P 21/02, C12Q 1/02, 1/68, A61K 31/711, 48/00, A61P 43/00, G01N 33/15, 33/50

(21) 国際出願番号: PCT/JP00/09408

(22) 国際出願日: 2000年12月28日 (28.12.2000)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願平11/375152 1999年12月28日 (28.12.1999) JP
特願2000/101339 2000年3月31日 (31.03.2000) JP

(71) 出願人 *(米国を除く全ての指定国について)*: 株式会社ヘリックス研究所 (**HELIX RESEARCH INSTITUTE**) [JP/JP]; 〒292-0812 千葉県木更津市矢那1532番地3 Chiba (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 *(米国についてのみ)*: 松本俊一郎 (**MATSUMOTO, Shun-ichiro**) [JP/JP]; 〒273-0005 千葉県船橋市本町4-43-2-605 Chiba (JP). 小田　環 (**ODA, Tamaki**) [JP/JP]; 〒292-0054 千葉県木更津市長須賀392-203 Chiba (JP). 斎藤洋子 (**SAITO, Youko**) [JP/JP]; 〒292-0043 千葉県木更津市東太田4-5-13-103 Chiba (JP). 森川記行 (**MORIKAWA, Noriyuki**) [JP/JP]; 〒292-0833 千葉県木更津市貝渕3-9-17-408 Chiba (JP). 吉田賢二 (**YOSHIDA, Kenji**) [JP/JP]; 〒292-0043 千葉県木更津市東太田4-11-1-302 Chiba (JP). 諏訪牧子 (**SUWA, Makiko**) [JP/JP]; 〒144-0052 東京都大田区蒲田1-24-4 Tokyo (JP). 杉山友康 (**SUGIYAMA, Tomoyasu**) [JP/JP]; 〒292-0045 千葉県木更津市清見台2-6-23-102 Chiba (JP). 岸本利光 (**KISHIMOTO, Toshimitsu**) [JP/JP]. 神崎康治 (**KANZAKI, Kouji**) [JP/JP]. 保田慎一郎 (**YASUDA, Shin-ichiro**) [JP/JP]. 井上佳久 (**INOUE, Yoshihisa**) [JP/JP]; 〒573-1153 大阪府枚方市招提大谷2-25-1 ウェルファイド株式会社 創薬研究所内 Osaka (JP).

(74) 代理人: 清水初志, 外(**SHIMIZU, Hatsushi et al.**); 〒300-0847 茨城県土浦市卸町1-1-1 関鉄つくばビル6階 Ibaraki (JP).

(81) 指定国 *(国内)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

[続葉有]

(54) **Title:** NOVEL GUANOSINE TRIPHOSPHATE-BINDING PROTEIN-COUPLED RECEPTORS, GENES THEREOF AND PRODUCTION AND USE OF THE SAME

(54) 発明の名称: 新規なグアノシン三リン酸結合蛋白質共役型の受容体およびそれらの遺伝子、並びにそれらの製造および用途

(57) **Abstract:** Nine novel genes sustaining hydrophobic domains, which are seemingly 7 transmembrane domains characteristic to G protein-coupled receptors, are successfully isolated by human tissue cDNA screening. These genes and proteins which are the expression products thereof are usable in screening ligands, screening agonists or antagonists which are useful as drugs, diagnosing diseases in which these gene participate, etc.

(57) 要約:

ヒト組織cDNAのスクリーニングにより、G蛋白質共役型受容体の特徴である7個の膜貫通ドメインと考えられる疎水性領域を保持する9種類の新規遺伝子を単離することに成功した。これら遺伝子やその翻訳産物である蛋白質は、リガンドのスクリーニングや医薬品として有用なアゴニストやアンタゴニストのスクリーニング、さらにはこれら遺伝子が関連する疾患の診断などに利用し得る。

BEST AVAILABLE COPY

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

２文字コード及び他の略語については、定期発行される各*PCT*ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

明細書

新規なグアノシン三リン酸結合蛋白質共役型の受容体およびそれらの遺伝子、並びにそれらの製造および用途

技術分野

本発明は、新規なG蛋白質共役型受容体およびそれらの遺伝子、並びにそれらの製造および用途に関する。

背景技術

G蛋白質共役型受容体(G protein-coupled receptors)は、三量体型GTP結合蛋白質の活性化を介して細胞内にシグナルを伝達する細胞膜受容体群の総称である。G蛋白質共役型受容体は、分子内に細胞膜貫通領域を7回有する構造上の特性から、「7回膜貫通型受容体」とも呼ばれる。G蛋白質共役型受容体は様々な生理活性物質の情報を、三量体型GTP結合蛋白質の活性化、それにより引き起こされる細胞内セカンドメッセンジャーの変動を介して細胞膜から細胞内へと伝達する。三量体型GTP結合蛋白質により制御される細胞内セカンドメッセンジャーは、アデニレートシクラーゼを介するcAMP、フォスフォリパーゼCを介するCa^{2+}などがよく知られているが、三量体型GTP結合蛋白質を介したチャネルの制御、リン酸化酵素の活性化など多くの細胞蛋白がその標的となっていることが最近明らかとなってきた（*Annu.Rev.Neurosci.*(97) 20:399）。G蛋白質共役型受容体に対する基質（リガンド）は、大変多岐に渡っており、タンパク性ホルモン、ケモカイン、ペプチド、アミン、脂質由来物質、さらにはトロンビンの様なプロテアーゼもその一例となる。現在、遺伝子が同定されたG蛋白質共役型受容体の数は感覚器受容体を除くと、ヒトで300個弱存在するが、リガンドが同定されたG蛋白質共役型受容体の数は、そのうち約140種類に過ぎず、リガン

ド未知な「オーファンG蛋白質共役型受容体」が100種類以上存在している。しかしながら実際のヒトゲノム中には、少なくとも400種類、場合によっては1000種類ものG蛋白質共役型受容体が存在する、とも想定されている（*Trends Pharmacol.Sci.* (97) 18:430）。この事は、今後のゲノム解析の飛躍的進展に伴って、機能未知なオーファンG蛋白質共役型受容体の数も爆発的に増加する事を意味している。

これまでに世界の製薬企業により創られてきた薬剤は、その9割以上が細胞外空間での相互作用を標的としており、その中でもG蛋白質共役型受容体に関連する低分子薬は大部分を占めている。その根拠としては、G蛋白質共役型受容体が関連する疾患が、遺伝的疾患を始めとして、脳神経系、循環器系、消化器系、免疫系、運動器系、泌尿器生殖器系など、非常に多くの領域に関連することにある。そのため、最近では多くの製薬企業がゲノム解析で明らかとなったオーファンG蛋白質共役型受容体を所有し、リガンド探索と生理機能の解明に鎬を削っている。こうした状況を背景として、最近では新規G蛋白質共役型受容体の生理的リガンド探索の成功例も報告され始めている。例えば、calcitonin gene-related peptide受容体（*J.Biol.Chem.*(96) 271:11325)、orexin（*Cell* (98) 92:573)そしてprolactin-releasing peptide（*Nature* (98) 393:272)などの事例は、生命科学分野での基礎研究としても大きな衝撃を持つ事例であった。

特に、オーファンG蛋白質共役型受容体は新たな薬剤開発に繋がる可能性の高い標的として、多大な注目を集めている。一般的にオーファンG蛋白質共役型受容体には特異的なリガンドが存在しないため、そのアゴニスト、アンタゴニストを開発することは困難であった。しかし、近年、充実された化合物ライブラリーとハイスループットスクリーニングと組み合わせることで、オーファンG蛋白質共役型受容体を標的とした薬剤の創製が提唱されている（*Trends Pharmacol.Sci.* (97) 18:430, *Br.J.Pharm.* (98) 125:1387）。すなわち、遺伝子操作によって同定されたオーファンG蛋白質共役型受容体を、細胞内セカンドメッ

センジャーであるcAMP，Ca^{2+}の変化を指標とした機能スクリーニングにより生理的アゴニストを発見し、生体内機能解析を行うというものである。この際、化合物ライブラリーを利用して、スクリーニングをハイスループット化することにより、オーファンG蛋白質共役型受容体に対する特異的な代替（surrogate）アゴニスト及びアンタゴニストの発見、ひいては特定の疾患治療薬の開発も理論的には可能となる。

発明の開示

本発明は、このようなG蛋白質共役型受容体を取り巻く現状に鑑みてなされたものであり、その目的は新規なG蛋白質共役型受容体およびその遺伝子、並びにそれらの製造方法及び用途を提供することにある。さらにこれら分子を薬剤開発研究の標的として提供することを目的とする。

本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意研究を重ねた結果、ヒト組織cDNAを鋳型にしたポリメラーゼ連鎖反応を実施することにより、G蛋白質共役型受容体の特徴である７個の膜貫通ドメインと考えられる疎水性領域を保持する９種類の新規遺伝子を単離することに成功した。これら遺伝子やその翻訳産物である蛋白質は、リガンドのスクリーニングや医薬品として有用なアゴニストやアンタゴニストのスクリーニング、あるいはこれら遺伝子が関連する疾患の診断に利用し得る。

即ち、本発明は、新規なG蛋白質共役型受容体およびそれらの遺伝子、並びにそれらの製造および用途に関し、より具体的には、

（１） グアノシン三リン酸結合蛋白質共役型の受容体をコードする下記（ａ）から（ｄ）のいずれかに記載のDNA、

（ａ）配列番号：１から４、１７から２１のいずれかに記載のアミノ酸配列からなる蛋白質をコードするDNA、 （ｂ）配列番号：５から８、２２から２６のいずれかに記載の塩基配列のコード領域を含むDNA、

（ｃ）配列番号：１から４、１７から２１のいずれかに記載のアミノ酸配列において１もしくは複数のアミノ酸が置換、欠失、付加および／または挿入したアミノ酸配列からなる蛋白質をコードするDNA、

（ｄ）配列番号：５から８、２２から２６のいずれかに記載の塩基配列からなるDNAにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNA、

（２）　配列番号：１から４、１７から２１のいずれかに記載のアミノ酸配列からなる蛋白質の部分ペプチドをコードするDNA、

（３）　（１）または（２）に記載のDNAを含有するベクター、

（４）　（１）または（２）に記載のDNAまたは（３）に記載のベクターを保持する形質転換体、

（５）　（１）または（２）に記載のDNAによりコードされる蛋白質またはペプチド、

（６）　（４）に記載の形質転換体を培養し、該形質転換体またはその培養上清から発現させた蛋白質またはペプチドを回収する工程を含む、（５）に記載の蛋白質またはペプチドの製造方法、

（７）　（５）に記載の蛋白質に結合するリガンドのスクリーニング方法であって、

（ａ）（５）に記載の蛋白質またはペプチドに被検試料を接触させる工程、

（ｂ）該蛋白質またはペプチドに結合する化合物を選択する工程、を含む方法、

（８）　（５）に記載の蛋白質とそのリガンドとの結合を阻害する活性を有する化合物のスクリーニング方法であって、

（ａ）被検試料の存在下で（５）に記載の蛋白質またはその部分ペプチドにリガンドを接触させ、該蛋白質またはその部分ペプチドとリガンドとの結合活性を検出する工程、

（ｂ）被検試料非存在下での結合活性と比較して、工程（ａ）で検出された結合活性を低下させる化合物を選択する工程、を含む方法、

（９）　（５）に記載の蛋白質の活性を阻害または促進する化合物をスクリーニングする方法であって、

（ａ）被検試料の存在下で該蛋白質を発現する細胞に該蛋白質のリガンドを接触させる工程、

（ｂ）該リガンドの該蛋白質への結合による細胞における変化を検出する工程、

（ｃ）被検試料非存在下での細胞における変化と比較して、工程（ｂ）で検出された細胞における変化を抑制または増強させる化合物を選択する工程、を含む方法、

（１０）　細胞における変化が、cAMP 濃度の変化またはカルシウム濃度の変化である、（８）または（９）に記載の方法、

（１１）　（５）に記載の蛋白質に結合する抗体、

（１２）　（７）から（１０）のいずれかに記載のスクリーニングにより単離される化合物、および

（１３）　（１２）に記載の化合物を有効成分とする医薬組成物、および

（１４）　癌、肝硬変、およびアルツハイマー病からなる群より選択される疾患の治療のための、（１３）に記載の医薬組成物、

（１５）　配列番号：５から８、２２から２６のいずれかに記載の塩基配列からなる DNA またはその相補鎖に相補的な、少なくとも 15 ヌクレオチドの鎖長を有するヌクレオチド、

（１６）　癌、肝硬変、およびアルツハイマー病からなる群より選択される疾患の診断方法であって、被検者由来の該疾患に関連した組織における（１）に記載の DNA の発現、または被検者における（１）に記載の DNA の変異を検出することを含む方法、

（１７）　（１１）に記載の抗体または（１５）に記載のヌクレオチドを含む、癌、肝硬変、およびアルツハイマー病からなる群より選択される疾患の診断薬、を提供するものである。

なお、本発明において「G蛋白質共役型受容体」とは、GTP結合蛋白質の活性化を介して細胞内にシグナルを伝達する細胞膜受容体を指す。

本発明において「リガンド」とは、G蛋白質共役型受容体に結合し、細胞内にシグナルを伝達する生理的物質を指す。ここで「生理的物質」とは、生体内でG蛋白質共役型受容体に結合している化合物を指す。

本発明において「アゴニスト」とは、G蛋白質共役型受容体に結合し、細胞内にシグナルを伝達しうる化合物を指し、生理的物質、人工的に合成した化合物、天然由来の化合物を含む。

本発明において「アンタゴニスト」とは、リガンドがG蛋白質共役型受容体に結合すること、もしくは細胞内にシグナルを伝達することを阻害する化合物を指し、生理的物質、人工的に合成した化合物、天然由来の化合物を含む。

本発明は、新規なG蛋白質共役型受容体および該蛋白質をコードするDNAを提供する。本発明に含まれる、本発明者等により単離された９のヒト由来のcDNAクローンを、「GPRv8」、「GPRv12」、「GPRv16」、「GPRv21」、「GPRv40」、「GPRv47」、「GPRv51」、「GPRv71」、「GPRv72」と命名した（必要に応じてこれらクローンをまとめて「GPRv」と称する）。これらcDNAの塩基配列を配列番号：５から８、２２から２６に、該cDNAによりコードされる蛋白質のアミノ酸配列を配列番号：１から４、１７から２１に示す。

BLAST検索の結果、GPRv cDNAがコードする蛋白質は、いずれも既知のG蛋白質共役型受容体と有意なアミノ酸配列上の相同性を示した。具体的には、「GPRv8」はHUMAN VASOPRESSIN V1B RECEPTOR (P47901, 424aa)に対して36%の相同性を、「GPRv12」はRAT 5-HYDROXYTRYPTAMINE 6 RECEPTOR (P31388, 436aa)に対して27%の相同性を、「GPRv16」はMOUSE GALANIN RECEPTOR TYPE 1 (P56479

, 348aa)に対して28%の相同性を、「GPRv21」はBOVIN NEUROPEPTIDE Y RECEPTOR TYPE 2 (P79113, 384aa)に対して30%の相同性を、「GPRv40」はOXYTOCIN RECEPTOR (P97926, 388aa)に対して34%の相同性を、「GPRv47」はGPRX_ORYLA PROBABLE G PROTEIN-COUPLED RECEPTOR (Q91178, 428aa)に対して43%の相同性を、「GPRv51」はPROBABLE G PROTEIN-COUPLED RECEPTOR RTA (P23749, 343aa)に対して37%の相同性を、「GPRv71」はChicken P2Y PURINOCEPTOR 3 (P2Y3) (Q98907, 328aa)に対して45%の相同性を、「GPRv72」はALPHA-1A ADRENERGIC RECEPTOR (O02824, 466aa)に対して30%の相同性をそれぞれ示した。

また、本発明者等が単離したGPRv cDNAがコードする蛋白質（以下、「GPRv蛋白質」と称することがある）は、いずれもG蛋白質共役型受容体の特徴である7個の膜貫通ドメインと考えられる疎水性領域を保持していた。これら事実から、GPRv cDNAは、いずれもG蛋白質共役型受容体ファミリーに属する蛋白質をコードしていると考えられる。G蛋白質共役型受容体は、そのリガンドの作用によりG蛋白質の活性化を通じて細胞内へシグナル伝達を行なう活性を有しており、上記したように遺伝的疾患を始めとして、脳神経系、循環器系、消化器系、免疫系、運動器系、泌尿器生殖器系などの非常に多くの領域の疾患に関連している。従って、GPRv蛋白質は、GPRv蛋白質の機能を調節するアゴニストやアンタゴニストなどのスクリーニングに利用することができ、上記疾患に対する医薬品の開発の重要な標的となる。

本発明は、また、GPRv蛋白質と機能的に同等な蛋白質を提供する。ここで「機能的に同等」とは、対象となる蛋白質がGPRv蛋白質と同等の生物学的特性を有していることを意味する。GPRv蛋白質が持つ生物学的特性としては、三量体型GTP結合蛋白質の活性化を介して細胞内へシグナル伝達を行なう活性が挙げられる。三量体型GTP結合蛋白質は、活性化する細胞内伝達系の種類によって、Ca^{2+}を上昇させるGq型、cAMPを上昇させるGs型、そしてcAMPを抑制するGi型の3種類のカテゴリーに分類される(*Trends Pharmacol.Sci.* (99) 20:118)。

従って、対象となる蛋白質がGPRv蛋白質と同等の生物学的特性を有しているか否かは、例えば、その活性化による細胞内のcAMP濃度もしくはカルシウム濃度の変化を検出することにより評価することが可能である。

GPRv蛋白質と機能的に同等な蛋白質を調製するための方法の１つの態様としては、蛋白質中のアミノ酸配列に変異を導入する方法が挙げられる。このような方法には、例えば、部位特異的変異誘発法(*Current Protocols in Molecular Biology* edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons Section 8.1-8.5))が含まれる。また、蛋白質中のアミノ酸の変異は、自然界において生じることもある。本発明には、このように人工的か自然に生じたものかを問わず、GPRv蛋白質のアミノ酸配列（配列番号：１から４、１７から２１）において１もしくは複数のアミノ酸が置換、欠失、挿入および／もしくは付加などにより変異した蛋白質であって、GPRv蛋白質と機能的に同等な蛋白質が含まれる。これら蛋白質におけるアミノ酸の変異数や変異部位は、GPRv蛋白質の機能が保持される限り制限はない。変異数は、典型的には、全アミノ酸の10％以内であり、好ましくは全アミノ酸の5％以内であり、さらに好ましくは全アミノ酸の１％以内であると考えられる。

GPRv蛋白質と機能的に同等な蛋白質を調製するための方法の他の態様としては、ハイブリダイゼーション技術あるいは遺伝子増幅技術を利用する方法が挙げられる。即ち、当業者であれば、ハイブリダイゼーション技術(*Current Protocols in Molecular Biology* edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons Section 6.3-6.4)を利用してGPRv蛋白質をコードするDNA配列（配列番号：５から８、２２から２６）またはその一部をもとに同種または異種生物由来のDNA試料から、これと相同性の高いDNAを単離して、該DNAからGPRv蛋白質と機能的に同等な蛋白質を得ることは、通常行いうることである。このようにGPRv蛋白質をコードするDNAとハイブリダイズするDNAによりコードされる

蛋白質であって、GPRv 蛋白質と機能的に同等な蛋白質もまた本発明の蛋白質に含まれる。

このような蛋白質を単離するための生物としては、ヒト以外に、例えば、ラット、マウス、ウサギ、ニワトリ、ブタ、ウシ等が挙げられるが、これらに制限されない。

GPRv 蛋白質と機能的に同等な蛋白質をコードする DNA を単離するためのストリンジェントなハイブリダイゼーション条件としては、通常「1xSSC、0.1% SDS、37℃」程度の条件であり、より厳しい条件としては「0.5xSSC、0.1% SDS、42℃」程度の条件であり、さらに厳しい条件としては「0.2xSSC、0.1% SDS、65℃」程度の条件である。このようにハイブリダイゼーションの条件が厳しくなるほどプローブ配列と高い相同性を有する DNA の単離を期待しうる。但し、上記 SSC、SDS および温度の条件の組み合わせは例示であり、当業者であれば、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーを決定する上記若しくは他の要素（例えば、プローブ濃度、プローブの長さ、ハイブリダイゼーション反応時間など）を適宜組み合わせることにより、上記と同様のストリンジェンシーを実現することが可能である。

このようなハイブリダイゼーション技術を利用して単離される DNA がコードする蛋白質は、通常、GPRv 蛋白質とアミノ酸配列において高い相同性を有する。高い相同性とは、少なくとも 40％以上、好ましくは 60％以上、さらに好ましくは 80％以上（例えば、90％以上や 95％以上）の配列の相同性を指す。

アミノ酸配列や塩基配列の同一性は、Karlin and Altschul によるアルゴリズム BLAST(Proc. Natl. Acad. Sei. USA 90:5873-5877, 1993)によって決定することができる。このアルゴリズムに基づいて、BLASTN や BLASTX と呼ばれるプログラムが開発されている(Altschul et al. J. Mol. Biol.215:403-410, 1990)。BLAST に基づいて BLASTN によって塩基配列を解析する場合には、パラメーターはたとえば score = 100、wordlength = 12 とする。また、BLAST に基づいて

BLASTXによってアミノ酸配列を解析する場合には、パラメーターはたとえばscore = 50、wordlength = 3とする。BLASTとGapped BLASTプログラムを用いる場合には、各プログラムのデフォルトパラメーターを用いる。これらの解析方法の具体的な手法は公知である(http://www.ncbi.nlm.nih.gov.)。

また、遺伝子増幅技術（PCR）（*Current protocols in Molecular Biology* edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons Section 6.1-6.4）を用いてGPRv蛋白質をコードするDNA配列（配列番号：５から８、２２から２６）の一部を基にプライマーを設計し、GPRv蛋白質をコードするDNA配列と相同性の高いDNA断片を単離し、該DNAを基にGPRv蛋白質と機能的に同等な蛋白質を得ることも可能である。

本発明は、また、本発明の蛋白質の部分ペプチドを含む。この部分ペプチドには、リガンドに結合するがシグナル伝達を行なわないペプチドが含まれる。このようなペプチドを基に作製したアフィニティーカラムは、リガンドのスクリーニングに好適に用いることができる。また、本発明の蛋白質の部分ペプチドは、抗体作製に用いることも可能である。本発明の部分ペプチドは、例えば、遺伝子工学的手法、公知のペプチド合成法、あるいは本発明の蛋白質を適当なペプチダーゼで切断することによって製造することができる。本発明の部分ペプチドは、通常、8アミノ酸残基以上、好ましくは12アミノ酸残基以上（例えば、15アミノ酸残基以上）である。

本発明の蛋白質は、組換え蛋白質として、また天然の蛋白質として調製することが可能である。組換え蛋白質は、例えば、後述するように本発明の蛋白質をコードするDNAを挿入したベクターを適当な宿主細胞に導入し、形質転換体内で発現した蛋白質を精製することにより調製することが可能である。一方、天然の蛋白質は、例えば、後述する本発明の蛋白質に対する抗体を結合したアフィニティーカラムを利用して調製することができる(*Current Protocols in Molecular Biology* edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons Sectio n 16.1-16.19)。アフィニティー精製に用いる抗体は、ポリクローナル抗体であってもモノクローナル抗体であってもよい。また、インビトロトランスレーション（例えば、「On the fidelity of mRNA translation in the nuclease-treated rabbit reticulocyte lysate system. Dasso,M.C.,Jackson,R.J.(1989) *NAR* 17:3129-3144」参照）などにより本発明の蛋白質を調製することも可能である。

また、本発明は、上記本発明の蛋白質をコードするDNAを提供する。本発明のDNAとしては、本発明の蛋白質をコードしうるものであれば、その形態に特に制限はなく、cDNAの他、ゲノムDNA、化学合成DNAなども含まれる。また、本発明の蛋白質をコードしうる限り、遺伝暗号の縮重に基づく任意の塩基配列を有するDNAが含まれる。本発明のDNAは、上記のように、GPRv蛋白質をコードするDNA配列（配列番号：５から８、２２から２６）あるいはその一部をプローブとしたハイブリダイゼーション法やこれらDNA配列をもとに合成したプライマーを用いたPCR法等の常法により単離することが可能である。

また、本発明は、本発明のDNAが挿入されたベクターを提供する。本発明のベクターとしては、挿入したDNAを安定に保持するものであれば特に制限されず、例えば宿主に大腸菌を用いるのであれば、クローニング用ベクターとしてはpBluescriptベクター(Stratagene社製）などが好ましい。本発明の蛋白質を生産する目的においてベクターを用いる場合には、特に発現ベクターが有用である。発現ベクターとしては、試験管内、大腸菌内、培養細胞内、生物個体内で蛋白質を発現するベクターであれば特に制限されないが、例えば、試験管内発現であればpBESTベクター（プロメガ社製）、大腸菌であればpETベクター（Invitrogen社製）、培養細胞であればpME18S-FL3ベクター（GenBank Accession No. AB009864）、生物個体であればpME18Sベクター（*Mol Cell Biol.* 8:466-472(1988)）などが好ましい。ベクターへの本発明のDNAの挿入は、常法により、例えば、制限酵素サイトを用いたリガーゼ反応により行うことができる（*Current* *protocols in Molecular Biology* edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons. Section 11.4-11.11）。

また、本発明は、本発明のDNAまたは本発明のベクターを保持する形質転換体を提供する。本発明のベクターが導入される宿主細胞としては特に制限はなく、目的に応じて種々の宿主細胞が用いられる。蛋白質を高発現させるための真核細胞としては、例えば、COS細胞、CHO細胞などを例示することができる。宿主細胞へのベクター導入は、例えば、リン酸カルシウム沈殿法、電気パルス穿孔法（*Current protocols in Molecular Biology* edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons. Section 9.1-9.9）、リポフェクタミン法（GIBCO-BRL社製）、マイクロインジェクション法などの公知の方法で行うことが可能である。

また、本発明は、本発明の蛋白質をコードするDNA（配列番号：５から８、２２から２６のいずれかに記載の塩基配列からなるDNAまたはその相補鎖）に相補的な、少なくとも15ヌクレオチドの鎖長を有するヌクレオチドを提供する。ここで「相補鎖」とは、A:T（ただしRNAの場合はU）、G:Cの塩基対からなる2本鎖核酸の一方の鎖に対する他方の鎖を指す。また、「相補的」とは、少なくとも15個の連続したヌクレオチド領域で完全に相補配列である場合に限られず、少なくとも70%、好ましくは少なくとも80%、より好ましくは90%、さらに好ましくは95%以上の塩基配列上の相同性を有すればよい。相同性を決定するためのアルゴリズムは本明細書に記載したものを使用すればよい。このようなヌクレオチドは、本発明のDNAを検出、単離するためのプローブとして、また、本発明のDNAを増幅するためのプライマーとして利用することが可能である。プライマーとして用いる場合には、通常、15bp～100bp、好ましくは15bp～35bpの鎖長を有する。また、プローブとして用いる場合には、本発明のDNAの少なくとも一部若しくは全部の配列を含む少なくとも15bpの鎖長のヌクレオチドが用いられる。このようなヌクレオチドは、好ましくは本発明の蛋白質をコードする

DNAに特異的にハイブリダイズするものである。「特異的にハイブリダイズする」とは、通常のハイブリダイゼーション条件下、好ましくはストリンジェントな条件下で、本発明の蛋白質をコードするDNA（配列番号：５から８、２２から２６）とハイブリダイズし、他の蛋白質をコードするDNAとはハイブリダイズしないことを意味する。

これらヌクレオチドは、本発明の蛋白質の異常を検査・診断するために利用できる。例えば、これらヌクレオチドをプローブやプライマーとして用いたノーザンハイブリダイゼーションやRT-PCRにより、本発明の蛋白質をコードするDNAの発現異常を検査することができる。これらヌクレオチドは、例えば、癌、肝硬変、またはアルツハイマー病の検査への利用が考えられる。また、これらヌクレオチドをプライマーとして用いたポリメラーゼ連鎖反応(PCR)により本発明の蛋白質をコードするDNAやその発現制御領域を増幅し、RFLP解析、SSCP、シークエンシング等の方法により、DNA配列の異常を検査・診断することができる。

また、これらヌクレオチドには、本発明の蛋白質の発現を抑制するためのアンチセンスDNAが含まれる。アンチセンスDNAは、アンチセンス効果を引き起こすために、少なくとも15bp以上、好ましくは100bp、さらに好ましくは500bp以上の鎖長を有し、通常、3000bp以内、好ましくは2000bp以内の鎖長を有する。このようなアンチセンスDNAには、本発明の蛋白質の異常（機能異常や発現異常）などに起因した疾患の遺伝子治療への応用も考えられる。該アンチセンスDNAは、例えば、本発明の蛋白質をコードするDNA（例えば、配列番号：５から８、２２から２６）の配列情報を基にホスホロチオネート法（Stein, 1988 Physicochemical properties of phosphorothioate oligodeoxynucleotides. *Nucleic Acids Res* 16, 3209-21 (1988)）などにより調製することが可能である。

本発明のヌクレオチドは、遺伝子治療に用いる場合には、例えば、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクターなどのウ

イルスベクターやリポソームなどの非ウイルスベクターなどを利用して、*ex vivo*法や *in vivo*法などにより患者へ投与を行うことが考えられる。

また、本発明は、本発明の蛋白質に結合する抗体を提供する。本発明の抗体の形態には特に制限はなく、ポリクローナル抗体やモノクローナル抗体または抗原結合性を有するそれらの一部も含まれる。また、全てのクラスの抗体が含まれる。さらに、本発明の抗体には、ヒト化抗体などの特殊抗体も含まれる。

本発明の抗体は、ポリクローナル抗体の場合には、常法に従い本発明の蛋白質のアミノ酸配列に相当するオリゴペプチドを合成し、家兎に免疫することにより得ることが可能である（*Current protocols in Molecular Biology* edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons. Section 11.12-11.13）。モノクローナル抗体の場合には、常法に従い大腸菌で発現し精製した蛋白質を用いてマウスを免疫し、その脾臓細胞と骨髄腫細胞を細胞融合させたハイブリドーマ細胞を調製し、該ハイブリドーマ細胞から得ることができる（*Current protocols in Molecular Biology* edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons. Section 11.4-11.11）。

本発明の蛋白質に結合する抗体は、本発明の蛋白質の精製に加え、例えば、本発明の蛋白質の発現異常や構造異常の検査・診断に利用することも考えられる。具体的には、例えば組織、血液、または細胞などから蛋白質を抽出し、ウェスタンブロッティング、免疫沈降、ELISA等の方法による本発明の蛋白質の検出を通して、発現や構造の異常の有無を検査・診断することができる。本発明の抗体は、例えば、癌、肝硬変、またはアルツハイマー病の検査への利用が考えられる。

また、本発明の蛋白質に結合する抗体を、本発明の蛋白質に関連した疾患の治療などの目的に利用することも考えられる。本発明の抗体は、本発明の蛋白質のアゴニストやアンタゴニストとして作用し得る。抗体を患者の治療目的で用いる場合には、ヒト抗体またはヒト化抗体が免疫原性の少ない点で好ましい。ヒト抗体は、免疫系をヒトのものと入れ換えたマウス（例えば、「Functional transp lant of megabase human immunoglobulin loci recapitulates human antibody response in mice, Mendez, M.J. et al.(1997) *Nat.Genet.*15:146-156」参照）に免疫することにより調製することができる。また、ヒト化抗体は、モノクローナル抗体の超可変領域を用いた遺伝子組換えによって調製することができる（*Methods in Enzymology* 203, 99-121(1991)）。

また、本発明は、本発明の蛋白質を利用した、本発明の蛋白質に結合するリガンドのスクリーニング方法を提供する。このスクリーニング方法は、（ａ）本発明の蛋白質またはその部分ペプチドに被検試料を接触させる工程、（ｂ）該蛋白質またはその部分ペプチドに結合する化合物を選択する工程を含む。

被検試料としては、特に制限はなく、例えば、種々のG蛋白質共役型受容体のリガンド活性については不明の公知化合物やペプチド（例えば、ケミカルファイルに登録されているもの）あるいはファージ・ディスプレイ法（*J.Mol.Biol.*（1991）222, 301-310）などを応用して作成されたランダム・ペプチド群を用いることができる。また、微生物の培養上清や、植物、海洋生物由来の天然成分などもスクリーニングの対象となる。その他、脳をはじめとする生体組織抽出物、細胞抽出液、遺伝子ライブラリーの発現産物などが挙げられるが、これらに制限されない。

スクリーニングに用いる本発明の蛋白質は、例えば、細胞表面に発現した形態、該細胞の細胞膜画分としての形態、アフィニティーカラムに結合した形態であってもよい。

具体的なスクリーニングの手法としては、例えば、本発明の蛋白質のアフィニティーカラムに被検試料を接触させ本発明の蛋白質に結合する化合物を精製する方法、ウエストウエスタンブロッティング法など多くの公知の方法を利用することができる。これら方法を利用する場合には、被検試料は適宜標識し、この標識を利用して本発明の蛋白質との結合を検出することができる。また、これら方法の他に、本発明の蛋白質を発現する細胞膜を調製して、これをチップ上に固定し

、リガンド結合時に三量体型 GTP 結合蛋白質が解離する事を、表面プラズモン共鳴（surface plasmon resonance）の変化で検出する方法（*Nature Biotechnology*（99）17:1105）を用いることも可能である。

また、被検試料と本発明の蛋白質との結合活性は、被検試料が細胞表面に発現させた本発明の蛋白質へ結合することにより生じる細胞における変化を指標に検出することもできる。このような変化としては、例えば、細胞内の Ca^{2+} レベルの変化や cAMP レベルの変化が挙げられるが、これらに制限されない。具体的には、G 蛋白質共役型受容体に対するアゴニスト活性は GTPγS 結合法により測定できる。

この方法の 1 つの実施例として、G 蛋白質共役型受容体を発現させた細胞膜を 20mM HEPES（pH7.4），100mM NaCl，10mM $MgCl_2$，50μM GDP 溶液中で、^{35}S で標識された GTPγS 400pM と混合させ、被検試料存在下と非存在下でインキュベーション後、濾過（filtration）を行い、結合した GTPγS の放射活性を比較する手法を用いることができる。

また G 蛋白質共役型受容体は、三量体型 GTP 結合蛋白質の活性化を介して細胞内にシグナルを伝達するシステムを共有している。三量体型 GTP 結合蛋白質は、活性化する細胞内伝達系の種類によって、Ca^{2+} を上昇させる Gq 型、cAMP を上昇させる Gs 型、そして cAMP を抑制する Gi 型の 3 種類に分類される。このことを応用して Gq 蛋白αサブユニットと他の G 蛋白αサブユニットとをキメラ化し、あるいは promiscuous な Gα蛋白質、Gα15、Gα16 を用いてリガンドスクリーニングの際の陽性シグナルを Gq の細胞内伝達経路である、Ca^{2+} 上昇に帰結させることが可能である。上昇した Ca^{2+} レベルは、TRE（TPA responsive element）または MRE（multiple responsive element）を上流に有するレポーター遺伝子系、Fura-2、Fluo-3 などの染色指示薬そして蛍光蛋白 aequorin などの変化を指標として検出ができる。同様に、Gs 蛋白αサブユニットと他の G 蛋白αサブユニットとをキメラ化し、陽性シグナルを Gs の細胞内伝達経路である、cAMP

上昇に帰結させ、CRE(cAMP-responsive element)を上流に有するレポーター遺伝子系での変化を指標とすることも可能である（*Trends Pharmacol.Sci.* (99) 20:118）。

このスクリーニング系において本発明の蛋白質を発現させる宿主細胞としては特に制限はなく、目的に応じて種々の宿主細胞が用いられるが、例えば、COS細胞、CHO細胞、HEK293細胞などを例示することができる。本発明の蛋白質を脊椎動物細胞で発現させるためのベクターとしては、本発明の蛋白質をコードする遺伝子の上流に位置するプロモーター、RNAのスプライス部位、ポリアデニル化部位および転写終結配列や複製起点等を有するものを好適に用いることができる。例えば、SV40の初期プロモーターを有するpSV2dhfr（*Mol.Cell.Biol.*(1981) 1,854-864）や、pEF-BOS（*Nucleic Acids Res.*(1990)18,5322）、pCDM8（*Nature*(1987)329,840-842）、pCEP4（Invitrogen社）などは、G蛋白質共役型受容体を発現させるのに有用なベクターである。ベクターへの本発明のDNAの挿入は常法により制限酵素サイトを用いたリガーゼ反応により行うことができる（*Current protocols in Molecular Biology* edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons. Section 11.4～11.11）。また、宿主細胞へのベクター導入は、例えば、リン酸カルシウム沈殿法、電気パルス穿孔法（*Current protocols in Molecular Biology* edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons. Section 9.1-9.9）、リポフェクタミン法（GIBCO-BRL社製）、FuGENE6試薬（ベーリンガーマンハイム社）、マイクロインジェクション法などの公知の方法で行うことが可能である。

上記の本発明の蛋白質に結合するリガンドのスクリーニング方法により、リガンドが単離されれば、本発明の蛋白質とリガンドの相互作用を阻害する化合物のスクリーニングが可能となる。従って、本発明は、また、本発明の蛋白質とそのリガンドとの結合を阻害する活性を有する化合物のスクリーニング方法を提供する。このスクリーニング方法は、（ａ）被検試料の存在下で本発明の蛋白質また

はその部分ペプチドにリガンドを接触させ、該蛋白質またはその部分ペプチドとリガンドとの結合活性を検出する工程、（b）被検試料非存在下での結合活性と比較して、工程（a）で検出された結合活性を低下させる化合物を選択する工程、を含む。

被検試料としては、特に制限はなく、例えば、コンビナトリアル・ケミストリー技術（Tetrahedron (1995) 51, 8135-8137）によって得られた化合物群、あるいはファージ・ディスプレイ法（*J.Mol.Biol.* (1991) 222, 301-310）などを応用して作成されたランダム・ペプチド群を用いることができる。また、微生物の培養上清や、植物、海洋生物由来の天然成分などもスクリーニングの対象となる。その他、脳をはじめとする生体組織抽出物、細胞抽出液、遺伝子ライブラリーの発現産物、合成低分子化合物、合成ペプチド、天然化合物などが挙げられるが、これらに制限されない。

スクリーニングに用いる本発明の蛋白質は、例えば、細胞表面に発現した形態、該細胞の細胞膜画分としての形態、あるいはアフィニティーカラムに結合した形態であってもよい。

具体的なスクリーニングの手法としては、例えば、リガンドを放射性同位元素などで標識して、被検試料の存在下において本発明の蛋白質と接触させ、被検試料非存在下で検出した場合と比較して、本発明の蛋白質とリガンドとの結合活性を低下させる化合物を、該リガンドに付された標識を基に検出する方法を用いることができる。また、上記の本発明の蛋白質に結合するリガンドのスクリーニングの場合と同様に、細胞内の変化を指標にスクリーニングすることも可能である。即ち、本発明の蛋白質を発現する細胞に被検試料の存在下でリガンドを接触させ、被検試料非存在下で検出した場合と比較して、該細胞における変化を減少させる化合物を選択することにより、本発明の蛋白質とリガンドとの結合を阻害する化合物をスクリーニングすることが可能である。本発明の蛋白質を発現する細胞は、上記した本発明の蛋白質に結合するリガンドのスクリーニングの場合と同

様に調製することができる。このスクリーニングにより単離される化合物は、本発明の蛋白質のアゴニストやアンタゴニストの候補となる。

また、本発明は、本発明の蛋白質の活性を阻害または促進する化合物をスクリーニングする方法を提供する。このスクリーニング方法は、（ａ）被検試料の存在下で本発明の蛋白質を発現する細胞に該蛋白質のリガンドを接触させる工程、（ｂ）該リガンドの本発明の蛋白質への結合による細胞における変化を検出する工程、（ｃ）被検試料非存在下での細胞における変化と比較して、工程（ｂ）で検出された細胞における変化を抑制または増強させる化合物を選択する工程、を含む。

被検試料としては、上記の本発明の蛋白質とリガンドとの結合を阻害する化合物のスリーニング方法と同様に、コンビナトリアル・ケミストリー技術によって得られた化合物群、ファージ・ディスプレイ法などを応用して作成されたランダム・ペプチド群、微生物の培養上清や、植物、海洋生物由来の天然成分、生体組織抽出物、細胞抽出液、遺伝子ライブラリーの発現産物、合成低分子化合物、合成ペプチド、天然化合物などを用いることができる。また、上記の本発明の蛋白質とリガンドとの結合を阻害する化合物のスリーニングにより単離された化合物を被検試料として用いることも可能である。本発明の蛋白質を発現する細胞は、上記した本発明の蛋白質に結合するリガンドのスクリーニングの場合と同様に調製することができる。被検試料接触後の細胞における変化は、上記のスクリーニング方法と同様に、細胞内のCa^{2+}レベルやcAMPレベルの変化を指標に検出することができる。また、細胞内のシグナル伝達を検出する場合には、ルシフェラーゼなどをレポーター遺伝子とするレポーターアッセイ系等の測定系を利用して検出することも可能である。

この検出の結果、被検試料非存在下においてリガンドを接触させた場合の細胞における変化と比較して、被検試料を接触させた場合における細胞における変化が抑制されていれば、用いた被検試料は、本発明の蛋白質の活性を阻害する化合

物であると判定される。逆に、被検試料が該細胞における変化を増強させれば、該化合物は、本発明の蛋白質の活性を促進する化合物であると判定される。なお、ここでいう「本発明の蛋白質の活性の促進または阻害する」とは、本発明の蛋白質に対する直接的な作用であると、間接的な作用であるとを問わず、結果として本発明の蛋白質の活性が促進または阻害されることを指す。従って、このスクリーニングにより単離される化合物には、本発明の蛋白質またはリガンドに作用してこれらの結合を阻害または促進することにより本発明の蛋白質の活性を阻害または促進する化合物の他、これらの結合自体を阻害または促進しないが、結果として本発明の蛋白質の活性を阻害または促進する化合物も含まれる。このような化合物には、例えば、本発明の蛋白質とリガンドとの結合を阻害しないが、細胞内のシグナル伝達経路を阻害若しくは促進する化合物が含まれる。

本発明のスクリーニング方法により単離される化合物を医薬品として用いる場合には、単離された化合物自体を直接患者に投与する以外に、公知の製剤学的方法により製剤化した医薬組成物として投与を行うことも可能である。例えば、薬理学上許容しうる担体（賦形剤、結合剤、崩壊剤、矯味剤、矯臭剤、乳化剤、希釈剤、溶解補助剤等）と混合して得られる医薬組成物または錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、トローチ剤、シロップ剤、液剤、乳剤、懸濁剤、注射剤（液剤、懸濁剤等）、坐剤、吸入剤、経皮吸収剤、点眼剤、眼軟膏等の製剤として経口または非経口に適した形態で処方される。患者への投与は、一般的には、例えば、動脈内注射、静脈内注射、皮下注射など当業者に公知の方法により行いうる。投与量は、患者の体重や年齢、投与方法などにより変動するが、当業者であれば適当な投与量を適宜選択することが可能である。また、該化合物がDNAによりコードされうるものであれば、該DNAを遺伝子治療用ベクターに組込み、遺伝子治療を行うことも考えられる。本発明のスクリーニング方法により単離される化合物は、例えば、癌、肝硬変、またはアルツハイマー病の治療への応用が期待される。

本発明は、また、本発明のGPRv蛋白質をコードする遺伝子の発現を検出することを特徴とする、癌、肝硬変、またはアルツハイマー病の診断方法を提供する。

本実施例において、本発明のGPRv蛋白質をコードする遺伝子が、癌、肝硬変、またはアルツハイマー病に関連した患部組織において、正常組織と比較して有意に発現レベルが相違することが見出された。従って、被検者のこれら組織における、本発明のGPRv蛋白質をコードする遺伝子の発現を検出することにより、これら疾患の診断を行うことが可能である。ここで「遺伝子の発現」には、転写および翻訳の双方が含まれる。

本発明の診断方法は、例えば、以下の如く実施することができる。

生検により採取した組織に一部や血液サンプルなどから、常法によりRNAを抽出し、実施例で示した定量的PCR、ノーザンハイブリダイゼイション、あるいはドットブロットハイブリダイゼイションなどによりGPRv mRNAの定量を行い、診断することが可能である。また、上記組織から蛋白質を抽出し、ウェスタンブロッティング、免疫沈降、ELISA等の方法を用いたGPRv蛋白質の定量、あるいは、非侵襲な方法として、GPRv蛋白質に結合する化合物や抗体を標識したものを被検患者に投与し、PET（ポジトロンエミッショントモグラフィー）などでの検出により診断することも可能である。

この診断の結果、被検者由来の組織における遺伝子の発現が、上記疾患に罹患した患者由来の組織における遺伝子の発現と、同一の傾向（例えば、正常組織と比較した遺伝子の発現レベルの上昇または低下）を示せば、該被検者は、疾患に罹患している、または罹患のおそれがあると判定される。

例えば、GPRv8は結腸で発現が認められるが、結腸癌でこの発現は顕著に上昇する。従って、被検者の結腸組織において、高レベルのGPRv8の発現が認められた場合、この被検者は、結腸癌の疑いがある。また、正常の膵臓および子宮で発現が検出できなかったが、癌化で中程度発現した。従って、被検者の膵臓また

は子宮において、GPRv8の発現が認められた場合、この被検者は膵臓癌または子宮癌の疑いがある。

GPRv12は正常卵巣および精巣では発現が検出できなかったが、癌化で発現が検出できた。また、アルツハイマー病では海馬での発現が減少した。従って、被検者の卵巣または精巣において、GPRv12の発現が認められた場合、この被検者は、卵巣癌または精巣癌の疑いがある。同様に、被検者の海馬において、正常値より低レベルのGPRv12の発現が認められた場合、この被検者は、アルツハイマー病の疑いがある。

GPRv16は、結腸で発現しているが、癌化で発現が検出できなくなった。脳では癌化で発現が増加した。肝臓では肝硬変により発現が検出できなくなった。アルツハイマー病の脳では海馬で発現が増強した。従って、被検者の結腸において正常値より低レベルのGPRv16の発現が認められた場合、この被検者は結腸癌の疑いがある。また、脳において、正常値より高レベルのGPRv16の発現が認められた場合、この被検者は脳の癌の疑いがある。また、肝臓において正常値より低レベルのGPRv16の発現が認められた場合、この被検者は肝硬変の疑いがある。また、海馬において正常値より高レベルのGPRv16の発現が認められた場合、この被検者はアルツハイマー病の疑いがある。

GPRv21は、癌化により結腸及び精巣での発現が検出できなくなった。従って、被検者の結腸または精巣において正常値より低レベルのGPRv21の発現が認められた場合、この被検者は結腸癌または精巣癌の疑いがある。

GPRv40は、癌化により脳、精巣での発現が増加し、肝硬変により発現が減少した。従って、脳や精巣において正常値より高レベルのGPRv40の発現が認められた場合、この被検者は脳の癌や精巣癌の疑いがある。また、肝臓において正常値より低レベルのGPRv40の発現が認められた場合、この被検者は肝硬変の疑いがある。

GPRv47は、癌化により脳、腎臓での発現が増加し、精巣での発現が減少した。肝臓での発現が肝硬変で検出できなくなった。従って、脳や腎臓において正常値より高レベルのGPRv47の発現が認められた場合、この被検者は脳の癌または腎臓癌の疑いがある。また、肝臓において正常値より低レベルのGPRv47の発現が認められた場合、この被検者は肝硬変の疑いがある。

GPRv51は、結腸や精巣において癌化により発現が減少した。肝硬変の肝臓でも正常と比較して発現が減少した。アルツハイマー病において海馬で発現が増大した。従って、結腸や精巣において正常値より低レベルのGPRv51の発現が認められた場合、この被検者は結腸癌または精巣癌の疑いがある。また、肝臓において正常値より低レベルのGPRv51の発現が認められた場合、この被検者は肝硬変の疑いがある。また、海馬において正常値より高レベルのGPRv51の発現が認められた場合、この被検者はアルツハイマー病の疑いがある。

GPRv71は、癌化により結腸および腎臓での発現が減少し、肝硬変の肝臓では発現が検出できなくなった。アルツハイマー病では前頭葉での発現が減少した。従って、結腸または腎臓において正常値より低レベルのGPRv71の発現が認められた場合、この被検者は結腸癌または腎臓癌の疑いがある。また、肝臓において正常値より低レベルのGPRv71の発現が認められた場合、この被検者は肝硬変の疑いがある。また、前頭葉において正常値より低レベルのGPRvの発現が認められた場合、この被検者はアルツハイマー病の疑いがある。

GPRv72は、結腸では強く発現しているが癌化で発現が検出できなくなった。アルツハイマー病の海馬で発現が増大した。従って、結腸において正常値より低レベルのGPRv72の発現が認められた場合、この被検者は結腸癌の疑いがある。また、海馬において正常値より高レベルのGPRv72の発現が認められた場合、この被検者はアルツハイマー病の疑いがある。

また、本発明のGPRv蛋白質をコードする遺伝子の変異により、上記疾患が発症することも考えられる。従って、本発明のGPRv蛋白質をコードする遺伝子の

変異を検出することにより、上記疾患の診断を行なうことも可能であると考えられる。

このような遺伝子診断は、例えば、以下の如く実施することができる。

診断用の核酸はゲノムDNAまたはcDNAを直接にあるいはPCRもしくはその他の増幅法を用いて増幅してもよい。正常遺伝子との比較において、増幅生成物のサイズ変化により欠失および挿入を検出することができる。増幅DNAとGPRvをコードするDNAをハイブリダイズさせ融解温度の差などにより点突然変異を同定することができる。DNA配列の相違は、変性物質含有または不含のゲル中のDNAフラグメントの電気泳動の移動度の変化を検出することや、直接的なDNA塩基配列決定により検出できる。

この診断の結果、被検者におけるGPRv蛋白質をコードする遺伝子が正常型と比較して変異していた場合、該被検者は上記疾患の疑いがあると判定される。

即ち、本明細書記載の方法によりGPRv蛋白質をコードする遺伝子の変異、mRNAや蛋白質の発現の増加や減少を検出することにより、癌、肝硬変、またはアルツハイマー病の診断方法またはかかる疾患に対する感受性の診断方法が提供される。

図面の簡単な説明

図1は、「GPRv8」アミノ酸配列を「Query」にして、SWISS-PROT全配列に対するBLAST検索を行った結果を示す図である。HUMAN VASOPRESSIN V1B RECEPTORに対し36%の相同性を示した。

図2は、「GPRv12」アミノ酸配列を「Query」にして、SWISS-PROT全配列に対するBLAST検索を行った結果を示す図である。RAT 5-HYDROXYTRYPTAMINE 6 RECEPTORに対し27%の相同性を示した。

図3は、「GPRv16」アミノ酸配列を「Query」にして、SWISS-PROT全配列に対するBLAST検索を行った結果を示す図である。MOUSE GALANIN RECEPTOR TYPE 1に対し28%の相同性を示した。

図4は、「GPRv21」のアミノ酸配列を「Query」にして、SWISS-PROT全配列に対するBLAST検索を行った結果を示す図である。BOVIN NEUROPEPTIDE Y RECEPTOR TYPE 2に対して30%の相同性を示した。

図5は、「GPRv40」アミノ酸配列を「Query」にして、SWISS-PROT全配列に対するBLAST検索を行った結果を示す図である。OXYTOCIN RECEPTOR (P97926)に対して34%の相同性を示した。

図6は、「GPRv47」アミノ酸配列を「Query」にして、SWISS-PROT全配列に対するBLAST検索を行った結果を示す図である。GPRX_ORYLA PROBABLE G PROTEIN-COUPLED RECEPTOR (Q91178)に対して43%の相同性を示した。

図7は、「GPRv51」アミノ酸配列を「Query」にして、SWISS-PROT全配列に対するBLAST検索を行った結果を示す図である。PROBABLE G PROTEIN-COUPLED RECEPTOR RTA (P23749)に対して37%の相同性を示した。

図8は、「GPRv71」アミノ酸配列を「Query」にして、SWISS-PROT全配列に対するBLAST検索を行った結果を示す図である。P2Y PURINOCEPTOR 3 (P2Y3) (Q98907)に対して45%の相同性を示した。

図9は、「GPRv72」アミノ酸配列を「Query」にして、SWISS-PROT全配列に対するBLAST検索を行った結果を示す図である。ALPHA-1A ADRENERGIC RECEPTOR (002824)に対して30%の相同性を示した。

図10は、GPRv8のハイドロパシープロットを示す図である。

図11は、GPRv8と類似ファミリーとのアライメントを示す図である。

'*' はその位置で全ての配列で完全に保存されていることを意味する。

':' はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事を意味する。{STA},{NEQK},{NHQK},{NDBQ},{QHRK},{MILV},{MILF},{HY},{FYW}

’.’はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事を意味する。{CSA},{ATV},{SAG},{STNK},{STPA},{SGND},{SNDEQK},{NDEQHK},{NEQHRK}

図１２は、図１１の続きである。

図１３は、GPRv12のハイドロパシープロットを示す図である。

図１４は、GPRv12とAF208288のアラインメントを示す図である。

’*’はその位置で全ての配列で完全に保存されていることを意味する。

’:’はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事を意味する。{STA},{NEQK},{NHQK},{NDBQ},{QHRK},{MILV},{MILF},{HY},{FYW}

’.’はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事を意味する。{CSA},{ATV},{SAG},{STNK},{STPA},{SGND},{SNDEQK},{NDEQHK},{NEQHRK}

図１５は、GPRv16のハイドロパシープロットを示す図である。

図１６は、GPRv16のHMMPFAM、膜貫通領域およびS-S結合についてまとめた図である。

***はHMMPFAMの結果7tm_1とアサインされた領域を示す。

###は膜貫通領域を示す。

@はS-S結合を形成するCysを示す。

図１７は、GPRv21のハイドロパシープロットを示す図である。

図１８は、GPRv21とその類似タンパクのアラインメントを示す図である。

’*’はその位置で全ての配列で完全に保存されていることを意味する。

’:’はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事を意味する。{STA},{NEQK},{NHQK},{NDBQ},{QHRK},{MILV},{MILF},{HY},{FYW}

’.’はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事を意味する。{CSA},{ATV},{SAG},{STNK},{STPA},{SGND},{SNDEQK},{NDEQHK},{NEQHRK}

図19は、図18の続きである。

図20は、GPRv40のハイドロパシープロットを示す図である。

図21は、GPRv40のHMMPFAM、膜貫通領域およびS-S結合についてまとめた図である。

***はHMMPFAMの結果7tm_1とアサインされた領域を示す。

###は膜貫通領域を示す。

@はS-S結合を形成するCysを示す。

図22は、GPRv47のハイドロパシープロットを示す図である。

図23は、GPRv47とその類似タンパクのアラインメントを示す図である。

'*' はその位置で全ての配列で完全に保存されていることを意味する。

':' はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事を意味する。{STA},{NEQK},{NHQK},{NDBQ},{QHRK},{MILV},{MILF},{HY},{FYW}

'.' はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事を意味する。{CSA},{ATV},{SAG},{STNK},{STPA},{SGND},{SNDEQK},{NDEQHK},{NEQHRK}

図24は、図23の続きである。

図25は、図24の続きである。

図26は、GPRv51のハイドロパシープロットを示す図である。

図27は、GPRv51と類似タンパクとのアラインメントを示す図である。

'*' はその位置で全ての配列で完全に保存されていることを意味する。

':' はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事を意味する。{STA},{NEQK},{NHQK},{NDBQ},{QHRK},{MILV},{MILF},{HY},{FYW}

'.' はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事を意味する。{CSA},{ATV},{SAG},{STNK},{STPA},{SGND},{SNDEQK},{NDEQHK},{NEQHRK}

図28は、GPRv71のハイドロパシープロットを示す図である。

図２９は、GPRv71とその類似タンパクのアラインメントを示す図である。

’*’ はその位置で全ての配列で完全に保存されていることを意味する。

’:’ はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事を意味する。{STA},{NEQK},{NHQK},{NDBQ},{QHRK},{MILV},{MILF},{HY},{FYW}

’.’ はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事を意味する。{CSA},{ATV},{SAG},{STNK},{STPA},{SGND},{SNDEQK},{NDEQHK},{NEQHRK}

図３０は、図２９の続きである。

図３１は、GPRv72のハイドロパシープロットを示す図である。

図３２は、GPRv72とその類似タンパクのアラインメントを示す図である。

’*’ はその位置で全ての配列で完全に保存されていることを意味する。

’:’ はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事を意味する。{STA},{NEQK},{NHQK},{NDBQ},{QHRK},{MILV},{MILF},{HY},{FYW}

’.’ はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事を意味する。{CSA},{ATV},{SAG},{STNK},{STPA},{SGND},{SNDEQK},{NDEQHK},{NEQHRK}

図３３は、図３２の続きである。

図３４は、図３３の続きである。

発明を実施するための最良の形態

次に、本発明を実施例によりさらに具体的に説明するが、本発明は下記実施例に限定されるものではない。なお、特に断りがない場合は、公知の方法（Maniatis, T. at al.(1982):”Molecular Cloning - A Laboratory Manual” Cold Spring Harbor Laboratory, NY）に従って実施可能である。

［実施例１］ 新規G蛋白質共役型受容体をコードする遺伝子の単離

本発明の新規G蛋白質共役型受容体（GPRv8, GPRv12, GPRv16, GPRv21, GPRv40, GPRv47, GPRv51, GPRv71, GPRv72）をコードする全長cDNAは、PCRにより取得した。

新規G蛋白質共役型受容体GPRv8の増幅にはヒト胎児由来のMarathon Ready cDNA（Clontech社）を鋳型cDNAに、フォワードプライマーとして5'-ATGCCAGCCAACTTCACAGAGGGCAGCT-3'（配列番号：９）、リバースプライマーとして5'-CTAGATGAATTCTGGCTTGGACAGAATC-3'（配列番号：１０）を用いた。PCRはPyrobest DNA polymerase（宝酒造）を用い、94℃（2.5分）の後、94℃（30秒）／60℃（30秒）／72℃（1分）のサイクルを25回繰り返した。その結果、約1.1 kbpのDNA断片が増幅された。この断片をpCR2.1 plasmid（Invitrogen社）を用いてクローニングした。得られたクローンの塩基配列はジデオキシターミネーター法によりABI377 DNA Sequencer（Applied Biosystems社）を用いて解析した。明らかになった配列を配列番号：５に示す。

同配列は1116塩基のオープンリーディングフレーム（配列番号：５の第１番目から第1116番目）を持っている。オープンリーディングフレームから予測されるアミノ酸配列（371アミノ酸）を配列番号：１に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型受容体の特徴である７個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型受容体をコードすることが判明した。

新規G蛋白質共役型受容体GPRv12の増幅にはヒト胎児脳由来のMarathon Ready cDNA（Clontech社）を鋳型cDNAに、フォワードプライマーとして5'-ATGGGCCCCGGCGAGGCGCTGCTGGCGG-3'（配列番号：１１）、リバースプライマーとして5'-TCAGTGTGTCTGCTGCAGGCAGGAATCA-3'（配列番号：１２）を用いた。PCRはPyrobest DNA polymerase（宝酒造）を用い5%ホルムアミド存在下で、94℃（2.5分）の後、94℃（5秒）／72℃（4分）のサイクルを５回、94℃（5秒）／70℃（4分）のサイクルを５回、94℃（5秒）／68℃（4分）のサイクルを25回繰り返

した。その結果、約1.1 kbpのDNA断片が増幅された。この断片をpCR2.1 plasmid（Invitrogen社）を用いてクローニングした。得られたクローンの塩基配列は、ジデオキシターミネーター法によりABI377 DNA Sequencer（Applied Biosystems社）を用いて解析した。明らかになった配列を配列番号：6に示す。

同配列は1092塩基のオープンリーディングフレーム（配列番号：6の第1番目から第1092番目）を持っている。オープンリーディングフレームから予測されるアミノ酸配列（363アミノ酸）を配列番号：2に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型受容体の特徴である7個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型受容体をコードすることが判明した。

新規G蛋白質共役型受容体GPRv16の増幅にはヒト脳由来のMarathon Ready cDNA（Clontech社）を鋳型cDNAに、フォワードプライマーとして5’-ATGCTGGCAGCTGCCTTTGCAGACTCTAAC-3’（配列番号：１３）、リバースプライマーとして5’-CTATTTAACACCTTCCCCTGTCTCTTGATC-3’（配列番号：１４）を用いた。PCRはPyrobest DNA polymerase（宝酒造社）を用い、94℃（2分）の後、94℃（30秒）／60℃（30秒）／72℃（1分）のサイクルを30回繰り返した。その結果、約1.2 kbpのDNA断片が増幅された。この断片をpCR2.1 plasmid（Invitrogen社）を用いてクローニングした。得られたクローンの塩基配列はジデオキシターミネーター法によりABI377 DNA Sequencer（Applied Biosystems社）を用いて解析した。明らかになった配列を配列番号：7に示す。

同配列は1260塩基のオープンリーディングフレーム（配列番号：7の第1番目から第1260番目）を持っている。オープンリーディングフレームから予測されるアミノ酸配列（419アミノ酸）を配列番号：3に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型受容体の特徴である7個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型受容体をコードすることが判明した。

新規G蛋白質共役型受容体GPRv21の増幅にはヒト胎児由来のMarathon Ready cDNA（Clontech社）を鋳型cDNAに、フォワードプライマーとして5'-ATGGAGACCACCATGGGGTTCATGGATG-3'（配列番号：１５）、リバースプライマーとして5'-TTATTTTAGTCTGATGCAGTCCACCTCTTC-3'（配列番号：１６）を用いた。PCRはPyrobest DNA polymerase（宝酒造）を用い、5% ホルムアミド存在下で、94℃（2.5分）の後、94℃（5秒）／72℃（4分）のサイクルを5回、94℃（5秒）／70℃（4分）のサイクルを5回、94℃（5秒）／68℃（4分）のサイクルを25回繰り返した。その結果、約1.2 kbpのDNA断片が増幅された。この断片をpCR2.1 plasmid（Invitrogen社）を用いてクローニングした。得られたクローンの塩基配列はジデオキシターミネーター法によりABI377 DNA Sequencer（Applied Biosystems社）を用いて解析した。明らかになった配列を配列番号：８に示す。

同配列は1182塩基のオープンリーディングフレーム（配列番号：８）を持っている。オープンリーディングフレームから予測されるアミノ酸配列（393アミノ酸）を配列番号：４に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型受容体の特徴である7個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型受容体をコードすることが判明した。

新規G蛋白質共役型受容体GPRv40の増幅にはヒト胎児由来のMarathon Ready cDNA（Clontech社）を鋳型cDNAに、フォワードプライマーとして5'-ATGGAGGATCTCTTTAGCCCCTCAATTC-3'（配列番号：２７）、リバースプライマーとして5'-CTAGAAGGCACTTTCGCAGGAGCAAGGC-3'（配列番号：２８）を用いた。PCRはPyrobest DNA polymerase（宝酒造）を用い、5% ホルムアミド存在下で、98° C（2.5分）の後、98° C（5秒）／72° C（4分）のサイクルを5回、98° C（5秒）／70° C（4分）のサイクルを5回、98° C（5秒）／68° C（4分）のサイクルを25回繰り返した。その結果、約1.3 kbpのDNA断片が増幅された。この断片をpCR2.1 plasmid（Invitrogen社）を用いてクローニングした。得られたクローンの塩基配列はジデオキシターミネーター法によりABI377 DNA Sequencer（Applied

Biosystems社）を用いて解析した。明らかになった配列を配列番号：２２に示す。

同配列は1305塩基のオープンリーディングフレーム（配列番号：２２）を持っている。オープンリーディングフレームから予測されるアミノ酸配列（434アミノ酸）を配列番号：１７に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型受容体の特徴である7個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型受容体をコードすることが判明した。

新規G蛋白質共役型受容体GPRv47の増幅にはヒト胎児脳由来のMarathon Ready cDNA（Clontech社）を鋳型cDNAに、フォワードプライマーとして5’-ATGGAGTCCTCACCCATCCCCCAGTCATC-3’（配列番号：２９）、リバースプライマーとして5’-TCATGACTCCAGCCGGGGTGAGGCGGCAG-3’（配列番号：３０）を用いた。PCRはPyrobest DNA polymerase（宝酒造）を用い、5% ホルムアミド存在下で、94° C（2分）の後、94° C（30秒）／50° C（30秒）／72° C（1.5分）のサイクルを35回繰り返した。その結果、約1.4 kbpのDNA断片が増幅された。この断片をpCR2.1 plasmid（Invitrogen社）を用いてクローニングした。得られたクローンの塩基配列はジデオキシターミネーター法によりABI377 DNA Sequencer（Applied Biosystems社）を用いて解析した。明らかになった配列を配列番号：２３に示す。

同配列は1356塩基のオープンリーディングフレーム（配列番号：２３）を持っている。オープンリーディングフレームから予測されるアミノ酸配列（451アミノ酸）を配列番号：１８に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型受容体の特徴である7個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型受容体をコードすることが判明した。

新規G蛋白質共役型受容体GPRv51の増幅にはヒト精巣由来のMarathon Ready cDNA（Clontech社）を鋳型cDNAに、フォワードプライマーとして5’-ATGAACCAGACTTTGAATAGCAGTGG-3’（配列番号：３１）、リバースプライマーとして5’-TC

AAGCCCCCATCTCATTGGTGCCCACG-3'（配列番号：３２）を用いた。PCRはPyrobest DNA polymerase（宝酒造）を用い、98°C（2.5分）の後、98°C（30秒）／50°C（30秒）／68°C（4分）のサイクルを35回繰り返した。その結果、約1.0 kbpのDNA断片が増幅された。この断片をpCR2.1 plasmid（Invitrogen社）を用いてクローニングした。得られたクローンの塩基配列はジデオキシターミネーター法によりABI377 DNA Sequencer（Applied Biosystems社）を用いて解析した。明らかになった配列を配列番号：２４に示す。

同配列は966塩基のオープンリーディングフレーム（配列番号：２４）を持っている。オープンリーディングフレームから予測されるアミノ酸配列（321アミノ酸）を配列番号：１９に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型受容体の特徴である7個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型受容体をコードすることが判明した。

新規G蛋白質共役型受容体GPRv71の増幅にはヒト胎児由来のMarathon Ready cDNA（Clontech社）を鋳型cDNAに、フォワードプライマーとして5'-ATGGAGAAGGTGGACATGAATACATCAC-3'（配列番号：３３）、リバースプライマーとして5'-TTACCCAGATCTGTTCAACCCTGGGCATC-3'（配列番号：３４）を用いた。PCRはPyrobest DNA polymerase（宝酒造）を用い、94°C（2.5分）の後、98°C（5秒）／72°C（4分）のサイクルを5回、98°C（5秒）／70°C（4分）のサイクルを5回、98°C（5秒）／68°C（4分）のサイクルを25回繰り返した。その結果、約1.0 kbpのDNA断片が増幅された。この断片をpCR2.1 plasmid（Invitrogen社）を用いてクローニングした。得られたクローンの塩基配列はジデオキシターミネーター法によりABI377 DNA Sequencer（Applied Biosystems社）を用いて解析した。明らかになった配列を配列番号：２５示す。

同配列は1002塩基のオープンリーディングフレーム（配列番号：２５）を持っている。オープンリーディングフレームから予測されるアミノ酸配列（333アミノ酸）を配列番号：２０に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型受容体

の特徴である７個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型受容体をコードすることが判明した。

新規G蛋白質共役型受容体GPRv72の増幅にはヒトゲノムDNA（Clontech社）を鋳型DNAに、フォワードプライマーとして5’-ATGACGTCCACCTGCACCAACAGCACGC-3’（配列番号：３５）、リバースプライマーとして5’-TCAAGGAAAAGTAGCAGAATCGTAGGAAG-3’（配列番号：３６）を用いた。PCRはPyrobest DNA polymerase（宝酒造）を用い、94° C（2分）の後、94° C（30秒）／55° C（30秒）／68° C（4分）のサイクルを30回繰り返した。その結果、約1.5 kbpのDNA断片が増幅された。この断片をpCR2.1 plasmid（Invitrogen社）を用いてクローニングした。得られたクローンの塩基配列はジデオキシターミネーター法によりABI377 DNA Sequencer（Applied Biosystems社）を用いて解析した。明らかになった配列を配列番号：２６に示す。

同配列は1527塩基のオープンリーディングフレーム（配列番号：２６）を持っている。オープンリーディングフレームから予測されるアミノ酸配列（508アミノ酸）を配列番号：２１に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型受容体の特徴である７個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型受容体をコードすることが判明した。

［実施例２］　新規G蛋白質共役型受容体のアミノ酸配列でのSWISS-PROTに対するBLAST検索

「GPRv8」のアミノ酸配列でのSWISS-PROTに対するBLAST検索結果を図１に示した。「GPRv8」は既知G蛋白質共役型受容体の中ではHUMAN VASOPRESSIN V1B RECEPTOR (P47901, 424aa)に対して、36%で最も高い相同性を示した。このことから「GPRv8」が新規G蛋白質共役型受容体であることが判明した。

「GPRv12」のアミノ酸配列でのSWISS-PROTに対するBLAST検索結果を図２に示した。「GPRv12」は既知G蛋白質共役型受容体の中ではRAT 5-HYDROXYTRYPTA

MINE 6 RECEPTOR (P31388, 436aa)に対して、27%で最も高い相同性を示した。このことから「GPRv12」が新規G蛋白質共役型受容体であることが判明した。

「GPRv16」のアミノ酸配列でのSWISS-PROTに対するBLAST検索結果を図3に示した。「GPRv16」は既知G蛋白質共役型受容体の中ではMOUSE GALANIN RECEPTOR TYPE 1 (P56479, 348aa)に対して、28%で最も高い相同性を示した。このことから「GPRv16」が新規G蛋白質共役型受容体であることが判明した。

「GPRv21」のアミノ酸配列でのSWISS-PROTに対するBLAST検索結果を図4に示した。「GPRv21」は既知G蛋白質共役型受容体の中では「GPRv21」は既知G蛋白質共役型受容体の中ではBOVIN NEUROPEPTIDE Y RECEPTOR TYPE 2 (P79113, 384aa)に対して30%で最も高い相同性を示した。このことから「GPRv21」が新規G蛋白質共役型受容体であることが判明した。

「GPRv40」のアミノ酸配列でのSWISS-PROTに対するBLAST検索結果を図5に示した。「GPRv40」は既知G蛋白質共役型受容体の中では同一なものは存在せず、OXYTOCIN RECEPTOR (P97926, 388aa)に対して34%で最も高い相同性を示した。このことから「GPRv40」が新規G蛋白質共役型受容体であることが判明した。

「GPRv47」のアミノ酸配列でのSWISS-PROTに対するBLAST検索結果を図6に示した。「GPRv47」は既知G蛋白質共役型受容体の中では同一なものは存在せず、GPRX_ORYLA PROBABLE G PROTEIN-COUPLED RECEPTOR (Q91178, 428aa)に対して43%で最も高い相同性を示した。このことから「GPRv47」が新規G蛋白質共役型受容体であることが判明した。

「GPRv51」のアミノ酸配列でのSWISS-PROTに対するBLAST検索結果を図7に示した。「GPRv51」は既知G蛋白質共役型受容体の中では同一なものは存在せず、PROBABLE G PROTEIN-COUPLED RECEPTOR RTA (P23749, 343aa)に対して37%で最も高い相同性を示した。このことから「GPRv51」が新規G蛋白質共役型受容体であることが判明した。

「GPRv71」のアミノ酸配列での SWISS-PROT に対する BLAST 検索結果を図８に示した。「GPRv71」は既知 G 蛋白質共役型受容体の中では同一なものは存在せず、Chicken P2Y PURINOCEPTOR 3 (P2Y3) (Q98907, 328aa)に対して 45%で最も高い相同性を示した。このことから「GPRv71」が新規 G 蛋白質共役型受容体であることが判明した。

「GPRv72」のアミノ酸配列での SWISS-PROT に対する BLAST 検索結果を図９に示した。「GPRv72」は既知 G 蛋白質共役型受容体の中では同一なものは存在せず、ALPHA-1A ADRENERGIC RECEPTOR (002824, 466aa)に対して 30%で最も高い相同性を示した。このことから「GPRv72」が新規 G 蛋白質共役型受容体であることが判明した。

［実施例３］　発現組織解析

１．試薬

1.1　定量用 polymerase chain reaction (PCR)プライマー及び TaqMan プローブ：センスプライマー、アンチセンスプライマー、及び TaqMan プローブは PE Biosystems の遺伝子解析ソフトウェア Primer Express version 1.0 を用いて設計した。通常のプライマーはアマシャム・ファルマシア・バイオテク（東京）に、TaqMan プローブは PE Biosystems Japan に製造を依頼した。なお、TaqMan プローブは、5'端にはリポーター色素 FAM を、3'端にはクエンチャーtamra を結合させた。プライマー及び TaqMan プローブの塩基配列を下に示す。

GPRv8 用合成 DNA

PCR プライマー　G8.957F：CCAGGAGCGTTTCTATGCCT（配列番号：３７）

G8.1082R：TGTGATCTTTGCTCCCTGCA（配列番号：３８）

TaqMan プローブ　GPRv8.987T:TCAGAACCTGCCAGCATTGAATAGTGCC（配列番号：３９）

GPRv12 用合成 DNA

PCR プライマー　G12.794F：ATCTGCTTTGCCCCGTATGT（配列番号：４０）

G12.903R：ACCGCCTTGCTGTAGGTCAG（配列番号：４１）

TaqMan プローブ　GPRv12.834T:TCGTGCCCTTCGTCACCGTGAA（配列番号：４２）

GPRv16 用合成 DNA

PCR プライマー　G16.1133F：CCCAGCATCCATACCAGAAAA（配列番号：４３）

G16.1254R：CTGTGTCCCTCTCATGCCAAA（配列番号：４４）

TaqMan プローブ　GPRv16.1193T:TGAGAAGGCAGAGATTCCCATCCTTCCT（配列番号：４５）

GPRv21 用合成 DNA

PCR プライマー　G21.989F：TCGCCATGAGCAACAGCAT（配列番号：４６）

G21.1114R：CACTGGACTTACCGCCATTGT（配列番号：４７）

TaqMan プローブ　GPRv21.1064T:AGATCATGTTGCTCCACTGGAAGGCTTCT（配列番号：４８）

GPRv40 用合成 DNA

PCR プライマー　G40.16F：GGATCTCTTTAGCCCCTCAATTC（配列番号：４９）

G40.99R：AAGGTCAGGTTGAGACCCCAG（配列番号：５０）

TaqMan プローブ　GPRv40.53T:AACATTTCCGTGCCCATCTTGCTGG（配列番号：５１）

GPRv47 用合成 DNA

PCR プライマー　G47.1292F：GCTGTTGACTTTCGAATCCCA（配列番号：５２）

G47.1393R：ACGGAGGTAGCTGTCTGACATGA（配列番号：５３）

TaqMan プローブ　GPRv47.1336T:TGAGTTCCTGGAGCAGCAACTCACCA（配列番号：５４）

GPRv51 用合成 DNA

PCR プライマー　G51.190F：GGCTTTCGAATGCACAGGAA（配列番号：５５）

G51.276R：GGAAGCCATGCTGAAGAGGA（配列番号：５６）

TaqMan プローブ　GPRv51.214T:TTCTGCATCTATATCCTCAACCTGGCGG（配列番号：５７）

GPRv71 用合成 DNA

PCR プライマー　G71.746F：TGGCCTCTTCACCCTCTGTTT（配列番号：58）

G71.841R：ATCAAGAGCTGGCAGTCCTGA（配列番号：59）

TaqMan プローブ　GPRv71.775T:TCCATATCACTCGCTCCTTCTACCTCACCA（配列番号：60）

GPRv72 用合成 DNA

PCR プライマー　G72.101F：CCAAAATGCCCATCAGCCT（配列番号：61）

G72.190R：GCACTATGTTGCCGACGAAA（配列番号：62）

TaqMan プローブ　GPRv72.132T:CATCCGCTCAACCGTGCTGGTTATCT（配列番号：63）

1.2 疾患由来 cDNA

同一患者の腫瘍および正常組織由来の cDNA は、Clontech の Matched cDNA Pairs を用いた。組織は肺、胃、結腸、卵巣、前立腺、子宮、および腎臓である。

腫瘍患者および正常成人の脳、膵臓、精巣、肝硬変患者および正常成人の肝臓、ループス病患者の腎臓、アルツハイマー病（AD）患者および正常成人の海馬及び前頭葉に由来する cDNA は、BioChain Institute から購入して用いた。

1.3　定量 PCR 反応用試薬：

TaqMan Universal PCR Master Mix (PE Biosystems) を使用した。内部標準測定用として TaqMan β-actin Control Reagents (PE Biosystems) を用いた。

2．定量 PCR 反応：

1）鋳型 cDNA の希釈

BioChain の cDNA は水にて 50 倍希釈し、Clontech の cDNA は水にて 5 倍希釈して用いた。

2）マスターミックスの調製

以下の組成の反応溶液を調製した。

	反応容量	調製容量
2×Master Mix	12.5μl	1380μl
ｾﾝｽﾌﾟﾗｲﾏｰ (50μM)	0.5μl	55.2μl
ｱﾝﾁｾﾝｽﾌﾟﾗｲﾏｰ (50μM)	0.5μl	55.2μl
TaqMan Probe (5μM)	1μl	110.4μl
鋳型 cDNA	2.5μl	
精製水	8μl	883.2μl
総量	25μl	2484μl

３）PCR 反応溶液の作成

マスターミックス溶液 54μl に鋳型 cDNA を 6μl 加えた後、定量 PCR 装置用の PCR プレートに 25μl ずつ duplicate でサンプル用ウェルに分注した。Non template control 用の２ウェルには上記マスターミックスを 25μl ずつ分注した。標準曲線の作成には pCEP4 ベクターにサブクローニングした cDNA を 100pg/μl から始めて 1/10 ずつ８段階希釈したものを利用した。2)のマスターミックス 54μl と Standard 液 6μl を加えたものから、25μl ずつを Standard 用ウェルに分注した。即ち、Standard 用ウェルには最も高濃度のもので 250pg、低濃度で 25ag(a: atto, 10^{-18})のプラスミド DNA が入ることになる。８連のキャップを装着した後、軽く遠心し気泡を除いた。

４）PCR 反応

プレートを定量 PCR 装置 (GeneAmp 5700 Sequence Detection System：PE Biosystems) にセットし、以下の運転プログラムで反応させた。

① 50℃, ２分 ： １サイクル

② 95℃, 10分 ： １サイクル

③ 95℃, 15秒 ｝： 50 サイクル
60℃, １分

５）定量解析

GeneAmp 5700の操作マニュアルに従い、定量解析を行い出力した。

３．結果およびまとめ：

ヒト正常および疾患患者の臓器由来cDNAを用いたGPCRの発現プロファイルは、アクチン遺伝子の発現量を内部標準として相対的な比を求め、2回の実験の平均を表1にまとめた。

表1

	relative copy number								
	GPRv8	GPRv12	GPRv16	GPRv21	GPRv40	GPRv47	GPRv51	GPRv71	GPRv72
Brain Normal 1)	0	0	1	0	6	9	0	0	0
Tumor 1)	5	2	11	0	23	76	2	5	0
Lung Normal	0	0	1	0	11	0	1	1	0
Tumor	1	0	1	0	11	2	1	1	1
Stomach Normal	6	0	0	0	29	0	1	1	0
Tumor	3	0	2	0	1	0	3	0	1
Pancreas Normal 1)	0	0	0	0	4	0	0	0	0
Tumor 1)	45	2	0	0	23	2	3	4	1
Colon Normal	141	0	61	11	119	50	111	44	113
Tumor	2766	0	0	0	110	21	6	2	0
Ovary Normal	0	0	1	0	2	1	2	1	1
Tumor	0	4	0	0	21	1	3	3	0
Uterus Normal	0	0	3	0	7	0	3	3	1
Tumor	19	0	0	0	9	1	21	8	1
Prostate Normal	0	0	0	0	18	1	3	1	0
Tumor	6	0	0	0	9	0	8	3	0
Testis Normal 1)	18	0	10	5	3	22	20	2	1
Tumor 1)	8	3	13	0	21	3	3	2	0
Kidney Normal	9	0	0	0	29	0	27	3	5
Tumor	9	0	0	0	28	10	15	0	0
Lupus 1)	25	0	1	0	1	0	3	1	0
Liver Normal 1)	0	0	10	0	27	11	13	5	1
Cirrhosis 1)	1	0	0	0	4	0	2	0	0
Hippocampus Normal 1)	6	12	4	0	40	113	2	5	2
AD 1)	16	1	50	3	111	63	55	12	27
Frontal lobe Normal 1)	3	2	8	0	16	140	3	8	1
AD 1)	2	1	1	0	9	29	2	2	0

3倍以上の発現変化が再現された場合、有意と考える。1) 印のある臓器由来cDNAはBioChainから購入したものであり、印のない臓器由来cDNAはClontechから購入したものである。以下に、個々の遺伝子の疾患による発現変化をまとめる。

GPRv8は正常の膵臓および子宮では発現が検出できなかったが、癌化で中等度発現した。結腸で強く発現するが、結腸癌でさらに強力に発現した。

GPRv12は全体的に発現が弱かった。正常卵巣および精巣では発現が検出できなかったが、癌化で発現が検出できた。アルツハイマー病では海馬での発現が減少した。

GPRv16は、結腸で発現しているが、癌化で発現が検出できなくなった。脳では癌化で発現が増加した。肝臓では肝硬変により発現が検出できなくなった。アルツハイマー病脳では海馬で発現が増強した。

GPRv21は、発現は少ないが、癌化により結腸及び精巣での発現が検出できなくなった。

GPRv40は、癌化により脳、精巣での発現が増加した。肝硬変により発現が減少した。

GPRv47は、癌化により脳、腎臓での発現が増加し、精巣での発現が減少した。肝臓での発現が肝硬変で検出できなくなった。

GPRv51は、結腸で強く発現しているが癌化により発現が減弱した。精巣では癌化により発現が減少した。肝硬変の肝臓でも正常と比較して発現が減少した。脳では発現が弱いが、アルツハイマー病において海馬で発現が増大した。

GPRv71は、癌化により結腸および腎臓での発現が減少した。肝硬変の肝臓では発現が検出できなくなった。アルツハイマー病では前頭葉での発現が減少した。

GPRv72は、結腸では強く発現しているが癌化で発現が検出できなくなった。脳では発現が弱いが、アルツハイマー病の海馬で発現が増大した。

［実施例４］ バイオインフォーマティクスによるGPRv8の解析

１．GPRv8のホモロジー検索

GPRv8のアミノ酸配列を既知配列(既知配列データベースとは、EMBL(Release 64, http://www.ebi.ac.uk/)、GENBANK(Release 120.0, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)、PIR (Release 66.00, http://www-nbrf.georgetown.edu/pir/)である)に対して解析プログラム (BLAST2.0) (Altschul, Stephen F. et al. (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402.)を用いて検索したところ、表２に示す配列とホモロジーを有することが明らかになった。GPRv8はGPCRと相同性を有する、新規なクローンであることが判明した。GPRv8のアミノ酸配列を既知配列に対して解析プログラム (blast2.0) を用いて検索した結果 (E-valueがe-39未満のもの) を表２に示す。

表２

Hit (ID)	E-value	Identities %	Description
AE003754	2e-68	43	gene: "CG6111" - Drosophila melanogaster
AF147743	7e-43	33	vasotocin VT1 receptor - Gallus gallus
AF184966	2e-42	33	arginine vasotocin receptor - Platichthys flesus
X93313	4e-42	36	mesotocin receptor - giant toad
X76321	8e-42	32	vasotocin receptor - white sucker
X87783	4e-41	33	isotocin receptor - white sucker
X64878	3e-40	32	oxytocin receptor - H.sapiens
U82440	7e-40	32	oxytocin receptor - Macaca mulatta

２．膜貫通部位の予測

GPRv8のアミノ酸配列を用いてKyte-Doolittleの方法(J.Kyte and R.F.Doolittle, (1982), *J.Mol.Biol.*, 157,105-132.)によりハイドロパシープロットを作成し、膜貫通部位の予測を行った。その結果、GPRv8は７個の膜貫通部位（TM1～TM7）を有することが判明した（図１０）。

３．HMMPfam検索

GPRv8のアミノ酸配列をクエリーとし、隠れマルコフモデルを用いたPFAM検索（HMMPFAM(Sonnhammer EL, et al., *Nucleic Acids Res*·1998 Jan 1;26(1):320-322)）を行った。隠れマルコフモデルはHMMER version2.1(http://hmmer.wustl.edu/)、PFAMデータベースはPfam Version 5.5 (http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/index.shtml) を用いて検索した。

その結果、GPRv8は、tm7_1 (Rhodopsin family) を有することが判明した。表３に、HMMPfam検索の結果を示す。

表3

Hit	Score	Expect	Q from	Q to	Description
7tm_1	164.2	5.1e-51	66	330	7 transmembrane receptor (rhodopsin family)

Hit：検索の結果推定されるドメインの名前。

Score：この値が高ければ高いほど信頼度が高い。

Expext：この値が0に近ければ近いほど信頼度が高い。

Q from：推定されたドメインの開始位置

Q to：推定されたドメインの終了位置

Description：推定されたドメインの説明

4．アミノ酸配列のアライメント

Clustalw 1.7を用いてGPRv8と表２のタンパクのアミノ酸配列のアライメントをおこなった（図１１、１２）。GPRv8は７個の膜貫通部位（### ###）を有し、GPCRに特有のSS結合を行うと考えられるCys（@をつけたCys）を有することが判明した。

［実施例５］　バイオインフォーマティクスによるGPRv12の解析

1．GPRv12のホモロジー検索

GPRv12のアミノ酸配列を既知配列(既知配列データベースとは、EMBL(Release 64, http://www.ebi.ac.uk/)、GENBANK(Release 120.0, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)、PIR (Release 66.00, http://www-nbrf.georgetown.edu/pir/)である)に対して解析プログラム（BLAST2.0）（Altschul, Stephen F. et al.,(1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402.)を用いて検索したところ、表４に示す配列とホモロジーを有することが明らかになった。GPRv12はGPCRと相同性を有する、新規なクローンであることが判明した。GPRv12のアミノ酸配列を既知配列に対して解析プログラム（blast2.0）を用いて検索した結果（E-valueがe-15未満のもの）を表４に示す。

表4

Hit (ID)	E-value	Identities %	Description
AF208288	8e-88	50	orphan G protein-coupled receptor GPR26 - Rattus norvegicus
L03202	2e-17	24	5-hydroxytryptamine receptor - rat
L41146	5e-17	23	5-HT6 serotonin receptor - Rattus norvegicus
S62043	2e-16	25	serotonin receptor 6 - rat
L41147	2e-16	24	5-HT6 serotonin receptor - Homo sapiens
AF134158	4e-16	23	serotonin 6 receptor - Mus musculus
L14856	4e-16	26	somatostatin receptor 4 - Human
Y14627	5e-16	21	Dopamine receptor - Cyprinus carpio
L07833	6e-16	26	somatostatin receptor 4- Homo sapiens
AF069547	8e-16	21	putative odorant receptor LOR4 - Lampetra fluviatilis

2. 膜貫通部位の予測

GPRv12のアミノ酸配列を用いてKyte-Doolittleの方法(J.Kyte and R.F.Doolittle, (1982), *J. Mol.Biol.*, 157,105-132.)によりハイドロパシープロットを作成し、膜貫通部位の予測を行った。その結果、GPRv12は7個の膜貫通部位（TM1～TM7）を有することが判明した(図13)。

3. HMMPfam検索

GPRv12のアミノ酸配列をクエリーとし、隠れマルコフモデルを用いたPFAM検索（HMMPFAM(Sonnhammer EL, et al., *Nucleic Acids Res* 1998 Jan 1;26(1):320-322)）を行った。隠れマルコフモデルはHMMER version2.1(http://hmmer.wustl.edu/)、PFAMデータベースはPfam Version 5.5 (http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/index.shtml) を用いて検索した。

その結果、GPRv12は、tm7_1 (Rhodopsin family) を有することが判明した。表5にHMMPfam検索の結果を示す。

表5

Hit	Score	Expect	Q from	Q to	Description
7tm_1	74.7	7.7e-23	22	294	7 transmembrane receptor (rhodopsin family)

Hit：検索の結果推定されるドメインの名前。

Score：この値が高ければ高いほど信頼度が高い。

Expext：この値が0に近ければ近いほど信頼度が高い。

Q from：推定されたドメインの開始位置

Q to：推定されたドメインの終了位置

Description：推定されたドメインの説明

４．アミノ酸配列のアライメント

Clustalw 1.7を用いてGPRv12とorphan G protein-coupled receptor GPR26 - Rattus norvegicus (AF208288) とのアミノ酸配列のアライメントをおこなった（図１４）。GPRv12は７個の膜貫通部位（### ###）を有し、GPCRに特有のSS結合を行うと考えられるCys（@をつけたCys）を有することが判明した。

［実施例６］バイオインフォーマティクスによるGPRv16の解析

１．GPRv16のホモロジー検索

GPRv16のアミノ酸配列を既知配列(既知配列データベースとは、EMBL(Release 64, http://www.ebi.ac.uk/)、GENBANK(Release 120.0, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)、PIR (Release 66.00, http://www-nbrf.georgetown.edu/pir/)である)に対して解析プログラム（BLAST2.0）(Altschul, Stephen F. et al.(1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402.)を用いて検索したところ、表６に示す配列とホモロジーを有することが明らかになった。GPRv16はGPCRと相同性を有する、新規なクローンであることが判明した。GPRv16のアミノ酸配列を既知配列に対して解析プログラム（blast2.0）を用いて検索した結果（E-valueがe-18未満のもの）を表６に示す。

表6

Hit (ID)	E-value	Identities %	Description
AF042784	4e-20	23	GALANIN RECEPTOR TYPE 2 - Mus musculus
U30290	4e-20	27	galanin receptor GALR1 - Rattus norvegicus
U90657	6e-20	27	GALANIN RECEPTOR TYPE 1 - mouse
AF042782	7e-20	25	galanin receptor type 2 - Homo sapiens
U94322	1e-19	24	galanin receptor type2 - Rattus norvegicus
AF077375	6e-19	23	galanin receptor type2 - Mus musculus

2．膜貫通部位の予測

GPRv16のアミノ酸配列を用いてKyte-Doolittleの方法(J.Kyte and R.F.Doolittle, (1982), *J. Mol.Biol.*, 157,105-132.)によりハイドロパシープロットを作成し、膜貫通部位の予測を行った。その結果、GPRv16は7個の膜貫通部位（TM1～TM7）を有することが判明した(図１５)。

3．HMMPfam検索

GPRv16のアミノ酸配列をクエリーとし、隠れマルコフモデルを用いたPFAM検索（HMMPFAM(Sonnhammer EL, et al., *Nucleic Acids Res* 1998 Jan 1;26(1):320-322)）を行った。隠れマルコフモデルはHMMER version2.1(http://hmmer.wustl.edu/)、PFAMデータベースはPfam Version 5.5 (http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/index.shtml）を用いて検索した。

その結果、GPRv16は、tm7_1 (Rhodopsin family) を有することが判明した。表７に、HMMPfam検索の結果を示す。

表7

Hit	Score	Expect	Q from	Q to	Description
7tm_1	23.8	8.3e-7	155	306	7 transmembrane receptor (rhodopsin family)
7tm_1	13.3	0.0017	53	133	7 transmembrane receptor (rhodopsin family)

Hit： 検索の結果推定されるドメインの名前。

Score： この値が高ければ高いほど信頼度が高い。

Expext： この値が0に近ければ近いほど信頼度が高い。

Q from： 推定されたドメインの開始位置

Q to： 推定されたドメインの終了位置

Description： 推定されたドメインの説明

4．

3．と4．の結果を図16にまとめた。GPRv16はGPCRに特徴的なS-S結合を形成するCys（@）を有することが判明した。

［実施例7］ バイオインフォーマティクスによるGPRv21の解析

1．GPRv21のホモロジー検索

GPRv21のアミノ酸配列を既知配列(既知配列データベースとは、EMBL(Release 64, http://www.ebi.ac.uk/)、GENBANK(Release 120.0, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)、PIR (Release 66.00, http://www-nbrf.georgetown.edu/pir/)である)に対して解析プログラム（BLAST2.0）(Altschul, Stephen F. et al.,(1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402.)を用いて検索したところ、表8に示す配列とホモロジーを有することが明らかになった。GPRv21はGPCRと相同性を有する、新規なクローンであることが判明した。GPRv21のアミノ酸配列を既知配列に対して解析プログラム（blast2.0）を用いて検索した結果（E-valueがe-35未満のもの）を表8に示す。

表8

Hit (ID)	E-value	Identities %	Description
AL121755	0.0	89	G-protein coupled receptor - Human
AF236082	0.0	83	G-protein coupled receptor GPR73 - Mus musculus
M81490	9e-37	34	neuropeptide receptor - D.melanogaster
U50144	3e-36	30	type 2 neuropeptide Y receptor - Bos taurus
U42766	6e-36	29	neuropeptide y2 receptor - Human
AF037444	8e-36	28	cardioexcitatory receptor - Lymnaea stagnalis
D86238	8e-36	28	neuropeptideY-Y2 receptor - Mus musculus
U42389	8e-36	29	neuropeptide y/peptide YY receptor type 2 - human
U76254	8e-36	29	neuropeptide Y receptor type 2 - Human

2．膜貫通部位の予測

GPRv21のアミノ酸配列を用いてKyte-Doolittleの方法(J.Kyte and R.F.Doolittle, (1982), *J.Mol.Biol.*, 157,105-132.)によりハイドロパシープロットを作成し、膜貫通部位の予測を行った。その結果、GPRv21は7個の膜貫通部位（TM1～TM7）を有することが判明した(図１７)。

3．HMMPfam検索

GPRv21のアミノ酸配列をクエリーとし、隠れマルコフモデルを用いたPFAM検索（HMMPFAM(Sonnhammer EL, et al., *Nucleic Acids Res* 1998 Jan 1;26(1):320-322)）を行った。隠れマルコフモデルはHMMER version2.1(http://hmmer.wustl.edu/)、PFAMデータベースはPfam Version 5.5 (http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/index.shtml）を用いて検索した。

その結果、GPRv21は、tm7_1（Rhodopsin family）を有することが判明した。表９に、HMMPfam検索の結果を示す。

表9

Hit	Score	Expect	Q from	Q to	Description
7tm_1	188.1	1.6e-58	79	338	7 transmembrane receptor (rhodopsin family)

Hit： 検索の結果推定されるドメインの名前。

Score： この値が高ければ高いほど信頼度が高い。

Expext： この値が0に近ければ近いほど信頼度が高い。

Q from： 推定されたドメインの開始位置

Q to： 推定されたドメインの終了位置

Description： 推定されたドメインの説明

４．アミノ酸配列のアライメント

Clustalw 1.7を用いてGPRv21と表８のタンパクとのアミノ酸配列のアライメントをおこなった（図１８、１９）。GPRv8は7個の膜貫通部位（### ###）を有し、GPCRに特有のSS結合を行うと考えられるCys（@をつけたCys）を有することが判明した。

［実施例８］ バイオインフォーマティクスによるGPRv40の解析

１．GPRv40のホモロジー検索

GPRv40のアミノ酸配列を既知配列(既知配列データベースとは、EMBL(Release 64, http://www.ebi.ac.uk/)、GENBANK(Release 120.0, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)、PIR (Release 66.00, http://www-nbrf.georgetown.edu/pir/)である)に対して解析プログラム（BLAST2.0）(Altschul, Stephen F. et al.,(1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402.)を用いて検索したところ、表１０に示す配列とホモロジーを有することが明らかになった。GPRv40はGPCRと相同性を有する、新規なクローンであることが判明した。GPRv40のアミノ酸配列を既知配列に対して解析プログラム（blast2.0）を用いて検索した結果（E-valueがe-11未満のもの）を表１０に示す。

表１０

Hit (ID)	E-value	Identities %	Description
D86599	1e-13	23	oxytocin receptor - Mus sp.
U15280	4e-13	23	oxytocin receptor - Rattus norvegicus
X76321	1e-12	22	vasotocin receptor - white sucker
X64878	2e-12	21	oxytocin receptor - H.sapiens
X87783	2e-12	21	isotocin receptor - C.commersoni
D45400	3e-12	23	vasopressin receptor V1b - rat
L37112	3e-12	24	vasopressin receptor subtype 1b - Homo sapiens
U27322	6e-12	23	arginine-vasopressin V1b receptor - Rattus norvegicus
U82440	6e-12	21	oxytocin receptor - Macaca mulatta

２．膜貫通部位の予測

GPRv40のアミノ酸配列を用いてKyte-Doolittleの方法(J.Kyte and R.F.Doolittle, (1982), *J.Mol.Biol.*, 157,105-132.)によりハイドロパシープロットを作成し、膜貫通部位の予測を行った。その結果、GPRv40は７個の膜貫通部位（TM1～TM7）を有することが判明した(図２０)。

３．HMMPfam検索

GPRv40のアミノ酸配列をクエリーとし、隠れマルコフモデルを用いたPFAM検索（HMMPFAM(Sonnhammer EL, et al., *Nucleic Acids Res* 1998 Jan 1;26(1):320-322)）を行った。隠れマルコフモデルはHMMER version2.1(http://hmmer.wustl.edu/)、PFAMデータベースはPfam Version 5.5 (http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/index.shtml) を用いて検索した。

その結果、GPRv40は、tm7_1 (Rhodopsin family) を有することが判明した。表１１に、HMMPfam検索の結果を示す。

表11

Hit	Score	Expect	Q from	Q to	Description
7tm_1	26.5	1.1e-07	228	352	7 transmembrane receptor (rhodopsin family)
7tm_1	18.1	5e-05	59	181	7 transmembrane receptor (rhodopsin family)

Hit: 検索の結果推定されるドメインの名前。

Score: この値が高ければ高いほど信頼度が高い。

Expext: この値が0に近ければ近いほど信頼度が高い。

Q from: 推定されたドメインの開始位置

Q to: 推定されたドメインの終了位置

Description: 推定されたドメインの説明

4.

3.と4.の結果を図21にまとめた。GPRv40はGPCRに特徴的なS-S結合を形成するCys (@) を有することが判明した。

[実施例9] バイオインフォーマティクスによるGPRv47の解析

1. GPRv47のホモロジー検索

GPRv47のアミノ酸配列を既知配列(既知配列データベースとは、EMBL(Release 64, http://www.ebi.ac.uk/)、GENBANK(Release 120.0, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)、PIR (Release 66.00, http://www-nbrf.georgetown.edu/pir/)である)に対して解析プログラム (BLAST2.0) (Altschul, Stephen F. et al.,(1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402.)を用いて検索したところ、表12に示す配列とホモロジーを有することが明らかになった。GPRv47はGPCRと相同性を有する、新規なクローンであることが判明した。GPRv47のアミノ酸配列を既知配列に対して解析プログラム (blast2.0) を用いて検索した結果 (E-valueがe-11未満のもの) を表12に示す。

表１２

Hit (ID)	E-value	Identities %	Description
D43633	1e-85	41	G protein-coupled seven-transmembrane receptor - Medaka fish
X98133	2e-28	27	histamine H2 receptor - H.sapiens
M32701	3e-28	28	histamine H2 receptor - Canine histamine
L41147	6e-28	31	5-HT6 serotonin receptor - Homo sapiens
U25440	8e-28	26	histamine H2 receptor - Cavia porcellus
D49783	1e-27	28	histamine H2 receptor - Human
U64032	2e-27	27	alpha 1d adrenoceptor - Oryctolagus cuniculus
S73473	3e-27	28	beta 3-adrenergic receptor - rats
M74716	4e-27	28	beta-adrenergic receptor - Rat
S57565	6e-27	27	histamine H2-receptor - rats

２．膜貫通部位の予測

GPRv47のアミノ酸配列を用いてKyte-Doolittleの方法(J.Kyte and R.F.Doolittle, (1982), *J.Mol.Biol.*, 157,105-132.)によりハイドロパシープロットを作成し、膜貫通部位の予測を行った。その結果、GPRv47は７個の膜貫通部位（TM1～TM7）を有することが判明した(図２２)。

３．HMMPfam検索

GPRv47のアミノ酸配列をクエリーとし、隠れマルコフモデルを用いたPFAM検索（HMMPFAM(Sonnhammer EL, et al., *Nucleic Acids Res* 1998 Jan 1;26(1):320-322)）を行った。隠れマルコフモデルはHMMER version2.1(http://hmmer.wustl.edu/)、PFAMデータベースはPfam Version 5.5（http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/index.shtml）を用いて検索した。

その結果、GPRv47は、tm7_1（Rhodopsin family）を有することが判明した。表１３に、HMMPfam検索の結果を示す。

表１３

Hit	Score	Expect	Q from	Q to	Description
7tm_1	137.9	9.6e-43	59	341	7 transmembrane receptor (rhodopsin family)

Hit： 検索の結果推定されるドメインの名前。

Score： この値が高ければ高いほど信頼度が高い。

Expext： この値が０に近ければ近いほど信頼度が高い。

Q from： 推定されたドメインの開始位置

Q to： 推定されたドメインの終了位置

Description： 推定されたドメインの説明

４．アミノ酸配列のアライメント

Clustalw 1.7を用いてGPRv47と類似タンパクとのアミノ酸配列のアライメントをおこなった（図２３～２５）。GPRv8は７個の膜貫通部位（### ###）を有し、GPCRに特有のSS結合を行うと考えられるCys（@をつけたCys）を有することが判明した。

［実施例１０］ バイオインフォーマティクスによるGPRv51の解析

１．GPRv51のホモロジー検索

GPRv51のアミノ酸配列を既知配列(既知配列データベースとは、EMBL(Release 64, http://www.ebi.ac.uk/)、GENBANK(Release 120.0, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)、PIR (Release 66.00, http://www-nbrf.georgetown.edu/pir/)である)に対して解析プログラム（BLAST2.0）(Altschul, Stephen F. et al.(1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402.)を用いて検索したところ、表１４に示す配列とホモロジーを有することが明らかになった。GPRv51はGPCRと相同性を有する、新規なクローンであることが判明した。GPRv51のアミノ酸配列を既知配列に対して解析プログラム（blast2.0）を用いて検索した結果（E-valueがe-18未満のもの）を表１４に示す。

表１４

Hit (ID)	E-value	Identities %	Description
M35297	4e-43	36	G-protein coupled receptor - Rat
J03823	1e-42	34	Rat mas oncogene, complete cds.
M13150	3e-40	34	mas proto-oncogene - Human
X67735	1e-39	35	Mas proto-oncogene - M.musculus mas
AL035542	1e-35	36	MAS-related G protein-coupled recep tor MRG - Human

２．膜貫通部位の予測

GPRv51のアミノ酸配列を用いてKyte-Doolittleの方法(J.Kyte and R.F.Doolittle, (1982), *J.Mol.Biol.*, 157,105-132.)によりハイドロパシープロットを作成し、膜貫通部位の予測を行った。その結果、GPRv51は７個の膜貫通部位（TM1～TM7）を有することが判明した(図２６)。

３．HMMPfam検索

GPRv51のアミノ酸配列をクエリーとし、隠れマルコフモデルを用いたPFAM検索（HMMPFAM(Sonnhammer EL, et al., *Nucleic Acids Res* 1998 Jan 1;26(1):320-322)）を行った。隠れマルコフモデルはHMMER version2.1(http://hmmer.wustl.edu/)、PFAMデータベースはPfam Version 5.5 (http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/index.shtml) を用いて検索した。

その結果、GPRv51は、tm7_1 (Rhodopsin family) を有することが判明した。表１５にHMMPfam検索の結果を示す。

表１５

Hit	Score	Expect	Q from	Q to	Description
7tm_1	32.6	1.4e-09	44	78	7 transmembrane receptor (rhodopsin family)
7tm_1	30.1	8.7e-09	104	276	7 transmembrane receptor (rhodopsin family)

Hit：検索の結果推定されるドメインの名前。

Score： この値が高ければ高いほど信頼度が高い。

Expext： この値が0に近ければ近いほど信頼度が高い。

Q from： 推定されたドメインの開始位置

Q to： 推定されたドメインの終了位置

Description： 推定されたドメインの説明

４．アミノ酸配列のアライメント

Clustalw1.7を用いてGPRv51とG-protein coupled receptor - Rat(M35297)とのアミノ酸配列のアライメントをおこなった（図２７）。GPRv51は７個の膜貫通部位（### ###）を有することが判明した。

［実施例１１］ バイオインフォーマティクスによるGPRv71の解析

１．GPRv71のホモロジー検索

GPRv71のアミノ酸配列を既知配列(既知配列データベースとは、EMBL(Release 64, http://www.ebi.ac.uk/)、GENBANK(Release 120.0, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)、PIR (Release 66.00, http://www-nbrf.georgetown.edu/pir/)である)に対して解析プログラム（BLAST2.0）(Altschul, Stephen F. et al.,(1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402.)を用いて検索したところ、表１６に示す配列とホモロジーを有することが明らかになった。GPRv71はGPCRと相同性を有する、新規なクローンであることが判明した。GPRv71のアミノ酸配列を既知配列に対して解析プログラム（blast2.0）を用いて検索した結果（E-valueがe-35未満のもの）を表１６に示す。

表１６

Hit (ID)	E-value	Identities %	Description
AF069555	9e-44	44	G protein-coupled receptor p2y3 - Meleagris gallopavo
X98283	9e-44	45	P2Y PURINOCEPTOR 3 - G.domesticus
AF031897	6e-41	40	P2Y nucleotide receptor - Meleagris gallopavo
X99953	1e-39	41	P2Y PURINOCEPTOR 8 - X.laevis
D63665	2e-37	41	novel G protein-coupled P2 receptor - Rat
Y14705	1e-36	40	P2Y4 receptor gene - Rattus norvegicus
AJ277752	2e-36	41	P2Y4 receptor - Mus musculus

２．膜貫通部位の予測

GPRv71のアミノ酸配列を用いてKyte-Doolittleの方法(J.Kyte and R.F.Doolittle, (1982), *J.Mol.Biol.*, 157,105-132.)によりハイドロパシープロットを作成し、膜貫通部位の予測を行った。その結果、GPRv71は７個の膜貫通部位（TM1～TM7）を有することが判明した（図２８）。

３．HMMPfam検索

GPRv71のアミノ酸配列をクエリーとし、隠れマルコフモデルを用いたPFAM検索（HMMPFAM(Sonnhammer EL,et al., *Nucleic Acids Res* 1998 Jan 1;26(1):320-322)）を行った。隠れマルコフモデルはHMMER version2.1(http://hmmer.wustl.edu/)、PFAMデータベースはPfam Version 5.5 (http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/index.shtml) を用いて検索した。

その結果、GPRv71は、tm7_1 (Rhodopsin family) を有することが判明した。表１７に、HMMPfam検索の結果を示す。

表１７

Hit	Score	Expect	Q from	Q to	Description
7tm_1	90.6	7.6e-28	40	161	7 transmembrane receptor (rhodopsin family)

Hit：検索の結果推定されるドメインの名前。

Score：この値が高ければ高いほど信頼度が高い。

Expext：この値が0に近ければ近いほど信頼度が高い。

Q from：推定されたドメインの開始位置

Q to：推定されたドメインの終了位置

Description：推定されたドメインの説明

４．アミノ酸配列のアライメント

Clustalw1.7を用いてGPRv71とその類似タンパクとのアミノ酸配列のアライメントをおこなった（図２９、３０）。GPRv71は７個の膜貫通部位（### ###）を有することが判明した。

［実施例１２］　バイオインフォーマティクスによるGPRv72の解析

１．GPRv72のホモロジー検索

GPRv72のアミノ酸配列を既知配列(既知配列データベースとは、EMBL(Release 64, http://www.ebi.ac.uk/)、GENBANK(Release 120.0, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)、PIR (Release 66.00, http://www-nbrf.georgetown.edu/pir/)である)に対して解析プログラム（BLAST2.0）(Altschul, Stephen F.et al.,(1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402.)を用いて検索したところ、表１８に示す配列とホモロジーを有することが明らかになった。GPRv72はGPCRと相同性を有する、新規なクローンであることが判明した。GPRv72のアミノ酸配列を既知配列に対して解析プログラム（blast2.0）を用いて検索した結果（E-valueがe-24未満のもの）を表１８に示す。

表18

Hit (ID)	E-value	Identities %	Description
AF091890	4e-29	32	G-protein coupled receptor RE2 - Homo sapiens
U81982	3e-25	30	alpha 1a-adrenoceptor - Oryctolagus cuniculus
S71323	6e-25	32	alpha-1A adrenergic receptor - Japanese medaka
D63859	6e-25	32	alpha1A-adrenoceptor - Oryzias latipes
U07126	8e-25	29	alpha1c adrenergic receptor - Rattus norvegicus
U03866	8e-25	30	adrenergic alpha-1c receptor protein - Human
AF013261	8e-25	30	alpha 1A adrenergic receptor isoform 4 - Homo sapiens
L31774	8e-25	30	alpha-1C-adrenergic receptor - Human
D32202	8e-25	30	alpha 1C adrenergic receptor isoform 2 - Human
D32201	8e-25	30	alpha 1C adrenergic receptor isoform 3 - Huma
D25235	8e-25	30	alpha1C adrenergic receptor

2．膜貫通部位の予測

GPRv72のアミノ酸配列を用いてKyte-Doolittleの方法(J.Kyte and R.F.Doolittle, (1982), *J.Mol.Biol.*, 157,105-132.)によりハイドロパシープロットを作成し、膜貫通部位の予測を行った。その結果、GPRv72は7個の膜貫通部位(TM1～TM7)を有することが判明した(図31)。

3．HMMPfam検索

GPRv72のアミノ酸配列をクエリーとし、隠れマルコフモデルを用いたPFAM検索(HMMPFAM(Sonnhammer EL, et al., *Nucleic Acids Res* 1998 Jan 1;26(1):320-322))を行った。隠れマルコフモデルはHMMER version2.1(http://hmmer.

wustl.edu/)、PFAMデータベースはPfam Version 5.5 (http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/index.shtml) を用いて検索した。

その結果、GPRv72は、tm7_1 (Rhodopsin family) を有することが判明した。表１９に、HMMPfam検索の結果を示す。

表１９

Hit	Score	Expect	Q from	Q to	Description
7tm_1	196.1	4.7e-61	48	454	7 transmembrane receptor (rhodopsin family)

Hit： 検索の結果推定されるドメインの名前。

Score： この値が高ければ高いほど信頼度が高い。

Expext： この値が０に近ければ近いほど信頼度が高い。

Q from： 推定されたドメインの開始位置

Q to： 推定されたドメインの終了位置

Description： 推定されたドメインの説明

４．アミノ酸配列のアライメント

Clustalw1.7を用いてGPRv72と表１８のタンパクとのアミノ酸配列のアライメントをおこなった（図３２～３４）。GPRv72は７個の膜貫通部位（### ###）を有し、GPCRに特有のSS結合を行うと考えられるCys（@をつけたCys）を有することが判明した。

産業上の利用の可能性

本発明により、新規Ｇ蛋白質共役型受容体（GPRv8, GPRv12, GPRv16, GPRv21, GPRv40, GPRv47, GPRv51, GPRv71, GPRv72）、該蛋白質をコードする遺伝子、該遺伝子を含むベクター、該ベクターを含む宿主細胞、該蛋白質の製造方法が提供された。さらに、該蛋白質の活性を修飾する化合物のスクリーニング方法が提供された。本発明の蛋白質やその遺伝子、または本発明の蛋白質の活性を修飾

する化合物は、本発明のG蛋白質共役型受容体蛋白質が関与する疾患の新しい予防薬や治療薬の開発への利用が期待される。

請求の範囲

１．　グアノシン三リン酸結合蛋白質共役型の受容体をコードする下記（ａ）から（ｄ）のいずれかに記載のDNA。

（ａ）配列番号：１から４、１７から２１のいずれかに記載のアミノ酸配列からなる蛋白質をコードするDNA。

（ｂ）配列番号：５から８、２２から２６のいずれかに記載の塩基配列のコード領域を含むDNA。

（ｃ）配列番号：１から４、１７から２１のいずれかに記載のアミノ酸配列において１もしくは複数のアミノ酸が置換、欠失、付加および／または挿入したアミノ酸配列からなる蛋白質をコードするDNA。

（ｄ）配列番号：５から８、２２から２６のいずれかに記載の塩基配列からなるDNAにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNA。

２．　配列番号：１から４、１７から２１のいずれかに記載のアミノ酸配列からなる蛋白質の部分ペプチドをコードするDNA。

３．　請求項１または２に記載のDNAを含有するベクター。

４．　請求項１または２に記載のDNAまたは請求項３に記載のベクターを保持する形質転換体。

５．　請求項１または２に記載のDNAによりコードされる蛋白質またはペプチド。

６．　請求項４に記載の形質転換体を培養し、該形質転換体またはその培養上清から発現させた蛋白質またはペプチドを回収する工程を含む、請求項５に記載の蛋白質またはペプチドの製造方法。

７．　請求項５に記載の蛋白質に結合するリガンドのスクリーニング方法であって、

（ａ）請求項５に記載の蛋白質またはペプチドに被検試料を接触させる工程、

（ｂ）該蛋白質またはペプチドに結合する化合物を選択する工程、を含む方法。

８．　請求項５に記載の蛋白質とそのリガンドとの結合を阻害する活性を有する化合物のスクリーニング方法であって、

（ａ）被検試料の存在下で請求項５に記載の蛋白質またはその部分ペプチドにリガンドを接触させ、該蛋白質またはその部分ペプチドとリガンドとの結合活性を検出する工程、

（ｂ）被検試料非存在下での結合活性と比較して、工程（ａ）で検出された結合活性を低下させる化合物を選択する工程、を含む方法。

９．　請求項５に記載の蛋白質の活性を阻害または促進する化合物をスクリーニングする方法であって、

（ａ）被検試料の存在下で該蛋白質を発現する細胞に該蛋白質のリガンドを接触させる工程、

（ｂ）該リガンドの該蛋白質への結合による細胞における変化を検出する工程、

（ｃ）被検試料非存在下での細胞における変化と比較して、工程（ｂ）で検出された細胞における変化を抑制または増強させる化合物を選択する工程、を含む方法。

１０．　細胞における変化が、cAMP 濃度の変化またはカルシウム濃度の変化である、請求項８または９に記載の方法。

１１．　請求項５に記載の蛋白質に結合する抗体。

１２．　請求項７から１０のいずれかに記載のスクリーニングにより単離される化合物。

１３．　請求項１２に記載の化合物を有効成分とする医薬組成物。

１４．　癌、肝硬変、およびアルツハイマー病からなる群より選択される疾患の治療のための、請求項１３に記載の医薬組成物。

１５．　配列番号：５から８、２２から２６のいずれかに記載の塩基配列からなるDNAまたはその相補鎖に相補的な、少なくとも15ヌクレオチドの鎖長を有するヌクレオチド。

１６．癌、肝硬変、およびアルツハイマー病からなる群より選択される疾患の診断方法であって、被検者由来の該疾患に関連した組織における請求項１に記載のDNAの発現、または被検者における請求項１に記載のDNAの変異追加しましたを検出することを含む方法。

１７．請求項１１に記載の抗体または請求項１５に記載のヌクレオチドを含む、癌、肝硬変、およびアルツハイマー病からなる群より選択される疾患の診断薬。

図1

```
>sp|P47901|V1BR_HUMAN VASOPRESSIN V1B RECEPTOR (AVPR V1B) (VASOPRESSIN V3
            RECEPTOR) (AVPR V3) (ANTIDIURETIC HORMONE RECEPTOR 1B).
            Length = 424

 Score = 316 (111.2 bits), Expect = 3.7e-41, Sum P(2) = 3.7e-41
 Identities = 70/194 (36%), Positives = 115/194 (59%)

Query:    56 LWVLFVFTIVGNSVVLFSTWRR-KKKSRMTFFVTQLAITDSFTGLVNILTDINWRFTGDF 114
             L  + V    GN  VL +  +  +K+SRM  FV  LA+TD    L  +L  + W  T  F
Sbjct:    41 LATVLVLATGGNLAVLLTLGQLGRKRSRMHLFVLHLALTDLAVALFQVLPQLLWDITYRF 100

Query:   115 TAPDLVCRVVRYLQVVLLYASTYVLVSLSIDRYHAIVYPMKFLQGEKQARVLIVIA-WSL 173
               PDL+CR V+YLQV+ ++ASTY+L+++++DRY A+ +P++ LQ   Q+  L++ A W L
Sbjct:   101 QGPDLLCRAVKYLQVLSMFASTYMLLAMTLDRYLAVCHPLRSLQQPGQSTYLLIAAPWLL 160

Query:   174 SFLFSIPTLIIFGKRTL--SNGEVQCWALWPDDSY-WTP--YMTIVAFLVYFIPLTIISI 228
             + +FS+P + IF  R +   +G + CWA   D  + W P  Y+T     ++ +P+T+++
Sbjct:   161 AAIFSLPQVFIFSLREVIQGSGVLDCWA---DFGFPWGPRAYLTWTTLAIFVLPVTMLTA 217

Query:   229 MYGIVIRTIW--IKSKT 243
              Y ++   I   +K KT
Sbjct:   218 CYSLICHEICKNLKVKT 234

 Score = 131 (46.1 bits), Expect = 3.7e-41, Sum P(2) = 3.7e-41
 Identities = 33/80 (41%), Positives = 47/80 (58%)

Query:   258 SSYNRGLISKAKIKAIKYSIIIILAFICCWSPYF---LFDILDNFNLLPDTQERFYASVI 314
             SS N   IS+AKI+ +K + +I+LA+I CW+P+F   ++ + D  N  PD      A  I
Sbjct:   267 SSINT--ISRAKIRTVKMTFVIVLAYIACWAPFFSVQMWSVWDK-NA-PDEDSTNVAFTI 322

Query:   315 IQNLPALNSAINPLIYCVFSSSI 337
                L  LNS  NP IY  F+S +
Sbjct:   323 SMLLGNLNSCCNPWIYMGFNSHL 345
```

図2

```
>sp|P31388|5H6_RAT 5-HYDROXYTRYPTAMINE 6 RECEPTOR (5-HT-6) (SEROTONIN RECEPTOR)
           (ST-B17).
           Length = 436

 Score = 224 (78.9 bits), Expect = 6.7e-17, P = 6.7e-17
 Identities = 84/309 (27%), Positives = 144/309 (46%)

Query:    3 PGEA--LLAGLLVMVLAVALLSNALVLLCCAYSAELRTRASGVLLVNLSLGHLLLAALDM 60
            PG +  + A L V+++  A  ++ L++L C   A LR   S   LV+L    L++  + M
Sbjct:   23 PGGSGWVAAALCVVIVLTAAANSLLIVLICTQPA-LRN-TSNFFLVSLFTSDLMVGLVVM 80

Query:   61 PFTLLGVMRGRTPSAPGACQVIGFLDTFLASNAALSVAALSADQWLAVGFPLRYAGRLR- 119
            P  +L  + GR   A G C +    D    S + L++  +S D++L +  PLRY  R+
Sbjct:   81 PPAMLNALYGRWVLARGLCLLWTAFDVMCCSASILNLCLISLDRYLLILSPLRYKLRMTA 140

Query:  120 PRYAGLLLGCAWGQSLAFSGAALGCSWLGYSSAFASCSLRLPPEPERPRFAA---FTATL 176
            PR   L+LG AW  SLA    AL  S+L     +        P P +  R  A   F
Sbjct:  141 PRALALILG-AW--SLA----ALA-SFLPLLLGWHELGKARTPAPGQCRLLASLPFVLVA 192

Query:  177 HAVGFVLPLAVLCLTSLQVHRVARRHCQRMDTVT-------MKALALLADLHPSVR---- 225
              V F LP   +C T  ++   AR+   ++ ++T       ++ L +     P +
Sbjct:  193 SGVTFFLPSGAICFTYCRILLAARKQAVQVASLTTGTAGQALETLQVPRTPRPGMESADS 252

Query:  226 QRCLIQQKRRRHRATRKIGIAIATFLICFAPYVMTRLAELVPFVTVNAQWGILSKCLTYS 285
            +R   +  R+  +A+  +GI +   F + + P+ +  +A+ V        + +L+  L Y
Sbjct:  253 RRLATKHSRKALKASLTLGILLGMFFVTWLPFFVANIAQAVCDCISPGLFDVLT-WLGYC 311

Query:  286 KAVADPFTYSLLRRPFRQVL 305
             +  +P  Y L  R F++ L
Sbjct:  312 NSTMNPIIYPLFMRDFKRAL 331
```

図3

```
>sp|P56479|GALR_MOUSE GALANIN RECEPTOR TYPE 1 (GAL1-R) (GALR1).
           Length = 348

 Score = 269 (94.7 bits), Expect = 7.9e-24, P = 7.9e-24
 Identities = 82/289 (28%), Positives = 136/289 (47%)

Query:   49 VGFVGNLCVIGILLHNAWKGKP-SMIHSLILNLSLADLSLLLFSAPIRATAYSKSVWDLG 107
            +G +GN  VI +L  +   GKP S  +  ILNLS+ADL+ LLF  P +AT Y+   W LG
Sbjct:   46 MGVLGNSLVITVLARSK-PGKPRSTTNLFILNLSIADLAYLLFCIPFQATVYALPTWVLG 104

Query:  108 WFVCKSSDWFIHTCMAAKSLTIVVVA--KVCFMYASDPAKQVSIHNYTIWSVLVAIWTVA 165
             F+CK   +F    M     T+  ++  +   +  S  +  + +    +  V   IW ++
Sbjct:  105 AFICKFIHYFFTVSMLVSIFTLAAMSVDRYVAIVHSRRSSSLRVSRNALLGVGF-IWALS 163

Query:  166 SLLPLPEWFFSTIRHHEGVE-MCLVDVPAVAEEFMSMFGKLYPL--LAFG--LPLFFASF 220
              +  P  +   + H +  +  C    P        +  K Y +    FG  LPL    F
Sbjct:  164 IAMASPVAYHQRLFHRDSNQTFCWEQWPN------KLHKKAYVVCTFVFGYLLPLLLICF 217

Query:  221 YFWRAYDQCKKRGTKTQNLRNQIRSKQVTVMLLSIAIISAVLWLPEWVAWLWVWHLKAAG 280
             + +  +   K+  K  + +++   K+    +L + ++  + WLP  V  LW      A
Sbjct:  218 CYAKVLNHLHKK-LKNMSKKSEASKKKTAQTVLVVVVVFGISWLPHHVVHLWAEF--GAF 274

Query:  281 PAPPQGFI--ALSQVLMFSISSANPLIFLVMSEEFREGLKGVWKWMITKKPPTVSESQE 337
            P  P  F     +  L +S SS NP+I+  +SE FR+  K V+K  +  + P  SE++E
Sbjct:  275 PLTPASFFFRITAHCLAYSNSSVNPIIYAFLSENFRKAYKQVFKCHVCDESPR-SETKE 332
```

図4

```
>sp:NY2R_BOVIN NEUROPEPTIDE Y RECEPTOR TYPE 2 (NPY2-R).
          Length = 384

 Score =  153 bits (383), Expect = 5e-37
 Identities = 93/308 (30%), Positives = 164/308 (53%), Gaps = 7/308 (2%)

Query: 47  DEDEDVTNSRTFFAAKIVIGMALVGIMLVCGIGNFIFIAALVRYKKLRNLTNLLIANLAI 106
           D + ++ +S      ++V+ +A   I+L+  IGN + I  ++++K +R +TN  IANLA+
Sbjct: 38  DSEPELIDSTKLIEVQVVLILAYCSIILLGVIGNSLVIHVVIKFKSMRTVTNFFIANLAV 97

Query: 107 SDFLVAIVCCPFEMDYYVVRQLSWEHGHVLCTSVNYLRTVSLYVSTNALLAIAIDRYLAI 166
           +D LV  +C PF + Y ++ +  W+ G VLC  V Y + +++ VST  L  IA+DR+  I
Sbjct: 98  ADLLVNTLCLPFTLTYTLMGE--WKMGPVLCHLVPYAQGLAVQVSTITLTVIALDRHRCI 155

Query: 167 VHPLRPRMKCQTATGLIALVWTVSILIAIPSAYFTTETVLVIVKSQEKIFCGQIWPVDQQ 226
           V+ L  ++  Q +  +I L W VS L+A P A F   +++ I+   E + C + WP +++
Sbjct: 156 VYHLESKISKQISFLIIGLAWGVSALLASPLAIFREYSLIEIIPDFEIVACTEKWPGEEK 215

Query: 227 -LYYKSYFLFIFGIEFVGPVVTMTLCYARISRELWFKAVPGFQTEQIRKRLRCRRKTVLV 285
            +Y   Y L    I +V P+  ++  Y RI  +L     PG   +   +R   R+KT  +
Sbjct: 216 GIYGTIYSLSSLLILYVLPLGIISFSYTRIWSKLKNHVSPGAAHDHYHQR---RQKTTKM 272

Query: 286 LMCILTAYVLCWAPFYGFTIVRDFFPTVFVKEKHYLTAFYIVECIAMSNSMINTLCFVTV 345
           L+C++  + + W P + F +  D    V +  K Y   F +   IAM ++  N L +  +
Sbjct: 273 LVCVVVVFAVSWLPLHAFQLAVDIDSHV-LDLKEYKLIFTVFHIIAMCSTFANPLLYGWM 331

Query: 346 KNDTVKYF 353
            ++  K F
Sbjct: 332 NSNYRKAF 339
```

図5

```
>sp|P97926|OXYR_MOUSE OXYTOCIN RECEPTOR (OT-R).
           Length = 388

 Score = 164 (57.7 bits), Expect = 8.9e-22, Sum P(2) = 8.9e-22
 Identities = 57/166 (34%), Positives = 84/166 (50%)

Query:   24 WGLNLTLGQGAP-------ASGPPSR-----RVRLVFLGVILVVAVAGNTTVLCRLCGGG 71
            W + L LG G P        +GPP R     RV +  L +IL +A++GN  VL  L
Sbjct:    9 WSIELDLGSGVPPGAEGNLTAGPPRRNEALARVEVAVLCLILFLALSGNACVLLAL---- 64

Query:   72 GPWAGPKRRKMDFLLVQLALADLYACGGTALSQLAWELLGEPRAATGDLACRFLQLLQAS 131
                  K  ++ F +  L++ADL       L QL W++    R    DL CR ++ LQ
Sbjct:   65 -RTTRHKHSRLFFFMKHLSIADLVVAVFQVLPQLLWDITF--RFYGPDLLCRLVKYLQVV 121

Query:  132 GRGASAHLVVLIALERRRAVRLPHGRPLPARA--LAALG-WLLALLLALPPAFV 182
            G  AS +L++L++L+R  A+  P  R L  R   LA L  WL  L+ ++P   +
Sbjct:  122 GMFASTYLLLLMSLDRCLAICQPL-RSLRRRTDRLAVLATWLGCLVASVPQVHI 174

 Score = 155 (54.6 bits), Expect = 8.9e-22, Sum P(2) = 8.9e-22
 Identities = 49/161 (30%), Positives = 85/161 (52%)

Query:  217 CHGIFAPLPRWHLQVYAFYEAVAGFVAPVTVLGVACGHLLS--VWW--RHRPQAPAAAAP 272
            C  +F  +  W  + Y  +  +A ++ PV VL  AC  L+S  +W   R +  A AAAA
Sbjct:  187 CWAVF--IQPWGPKAYVTWITLAVYIVPVIVLA-ACYGLISFKIWQNLRLKTAAAAAAAE 243

Query:  273 WSASPG--------RAPAPSALPRAKVQSLKMSLLLALLFVGCELPYFAARLAAAWS-SG 323
             S + G        R  +   + +AK++++KM+ ++ L F+ C  P+F  ++ + W  +
Sbjct:  244 GSDAAGGAGRAALARVSSVKLISKAKIRTVKMTFIIVLAFIVCWTPFFFVQMWSVWDVNA 303

Query:  324 PAGDWEGEGLSAALRVVAMANSALNPFVYLFFQAGDCRLRRQLRKRLGSLCCA 376
            P    E      A+ ++A  NS  NP++Y+ F      L  +L +R   LCC+
Sbjct:  304 PK---EASAFIIAM-LLASLNSCCNPWIYMLFTG---HLFHELVQRF--LCCS 347
```

図6

```
>sp|Q91178|GPRX_ORYLA PROBABLE G PROTEIN-COUPLED RECEPTOR (FRAGMENT).
            Length = 428

 Score = 823 (289.7 bits), Expect = 9.8e-83, P = 9.8e-83
 Identities = 182/422 (43%), Positives = 266/422 (63%)

Query:    2 ESSPIPQSSGNSSTLGRVPQTPGPSTASGVPEVGL----RDVASESVALFFMLLLDLTAV 57
            ++SP+  S  + S        P P+     P+VG+    +    +   LF M+ L+L A+
Sbjct:    5 KTSPMITSDHSISNFSTGLFGPHPTVP---PDVGVVTSSQSQMKDLFGLFCMVTLNLIAL 61

Query:   58 AGNAAVMAVIAKTPALRKFVFVFHLCLVDLLAALTLMPLAMLSSSALFDHALFGEVACRL 117
              N  VM  IA+ P L+KF FV HLC VD+L A+ LMPL ++SSS  F   +F  + C++
Sbjct:   62 LANTGVMVAIARAPHLKKFAFVCHLCAVDVLCAILLMPLGIISSSPFFGTVVFTILECQV 121

Query:  118 YLFLSVCFVSLAILSVSAINVERYYYVVHPMRYEVRMTLGLVASVLVGVWVKALAMASVP 177
            Y+FL+V  + L+IL+++AI+VERY+Y+VHPMRYEV+MT+ LV  V++ +W K+L +A V
Sbjct:  122 YIFLNVFLIWLSILTITAISVERYFYIVHPMRYEVKMTINLVIGVMLLIWFKSLLLALVT 181

Query:  178 VLGRVSWEEGAPSVPPGCSLQWSHSAYCQLFVVVFAVLYFLLPLLLILVVYCSMFRVARV 237
            + G   +   +      CSL  SHS    +F V+F V+ FL P+++I  VY ++++VAR
Sbjct:  182 LFGWPPYGHQSSIAASHCSLHASHSRLRGVFAVLFCVICFLAPVVVIFSVYSAVYKVARS 241

Query:  238 AAMQHGP-LPTWME-TP-RQRSESLSSRSTMVTSSGAPQT-TPHRTFGGGKAAVVLLAVG 293
            AA+Q  P +PTW + +P + RS+S++S++T++T+   PQ  +P R F GGKAA+ L  +
Sbjct:  242 AALQQVPAVPTWADASPAKDRSDSINSQTTIITTRTLPQRLSPERAFSGGKAALTLAFIV 301

Query:  294 GQFLLCWLPYFSFHLYVALSAQPISTGQVESVVTWIGYFCFTSNPFFYGCLNRQIRGELS 353
            GQFL+CWLP+F FHL ++L+    S G +E  V W+ Y  F  NP FYG LNRQIR EL
Sbjct:  302 GQFLVCWLPFFIFHLQMSLTGSMKSPGDLEEAVNWLAYSSFAVNPSFYGLLNRQIRDELV 361

Query:  354 K-QFVCFFKPAPEEELRLPSREGSIEENFLQFLQGTGCPSESWVSRPLPSPKQ-EPPAVD 411
            K +  C  +P    E+   S EGS +ENFLQF+Q T   SE+  S    +P+  E  A
Sbjct:  362 KFRRCCVTQPV---EIGPSSLEGSFQENFLQFIQRTSSSSETHPSFANSNPRNMENQA-- 416

Query:  412 FRIPGQIAEE 421
             +IPGQI EE
Sbjct:  417 HKIPGQIPEE 426
```

図7

```
>sp|P23749|RTA_RAT PROBABLE G PROTEIN-COUPLED RECEPTOR RTA.
           Length = 343

 Score = 461 (162.3 bits), Expect = 2.3e-44, P = 2.3e-44
 Identities = 121/323 (37%), Positives = 178/323 (55%)

Query:      2 NQTLNSSGTVESALNYSRGS-TVHT-AYL----VLSSLAMFTCLCGMAGNSMVIWLLGFR 55
              NQ     G  E+   YSRG  T+   A L    V + + +  CLCG+ GN +V+W  GF
Sbjct:     13 NQNKMCPGMSEALELYSRGFLTIEQIATLPPPAVTNYIFLLLCLCGLVGNGLVLWFFGFS 72

Query:     56 MHRNPFCIYILNLAAADLLFLFSMASTLSLETQPLVNT-TDKVHELMKRLMYFAYTVGLS 114
              + R PF IY L+LA+AD ++LFS A    L     + +  D V  + + +    +  G+S
Sbjct:     73 IKRTPFSIYFLHLASADGIYLFSKAVIALLNMGTFLGSFPDYVRRVSRIVGLCTFFAGVS 132

Query:    115 LLTAISTQRCLSVLFPIWFKCHRPRHLSAWVCGLLWTLCLLMNGLTSSFCSKFL--KFNE 172
              LL AIS +RC+SV+FP+W+   RP+ LSA VC LLW L  L+  + + FC  FL  + +
Sbjct:    133 LLPAISIERCVSVIFPMWYWRRRPKRLSAGVCALLWLLSFLVTSIHNYFCM-FLGHEASG 191

Query:    173 DRCFRVDMVQAALIMGVLTPVMTLSSLTLFVWVRRSSQQWRRQPTRLFVVVLASVLVFLI 232
                C  +D+    L+  +  P+M L  L L + V   +++ R++  +L  VVLA V VFL+
Sbjct:    192 TACLNMDISLGILLFFLFCPLMVLPCLALILHVECRARR-RQRSAKLNHVVLAIVSVFLV 250

Query:    233 CSLPLSIYWFVLYWL-SLPPEMQVLCFSLSRLSSSVSSSANPVIYFLVGSRRSHRLPTRS 291
               S+ L I WF L+W+  +P         ++ L   ++SSA P++YFL G  +S RL
Sbjct:    251 SSIYLGIDWF-LFWVFQIPAPFPEY---VTDLCICINSSAKPIVYFLAGRDKSQRL-WEP 305

Query:    292 LGTVLQQALRE--EPELEGGETPTVGTNEM 319
              L  V Q+ALR+  EP      TP   T EM
Sbjct:    306 LRVVFQRALRDGAEPGDAASSTPNTVTMEM 335
```

図8

```
>sp|Q98907|P2Y3_CHICK P2Y PURINOCEPTOR 3 (P2Y3) (NUCLEOSIDE DIPHOSPHATE
            RECEPTOR).
            Length = 328

 Score = 452 (159.1 bits), Expect = 2.0e-43, P = 2.0e-43
 Identities = 85/185 (45%), Positives = 116/185 (62%)

Query:     15 CQFSEKYKQVYLSLAYSIIFILGLPLNGTVLWHFWGQTKRWSCATTYLVNLMVADLLYVL 74
              C F E++KQV L L YS++F+LGLPLN  V+   W   K  +  T Y++NL +ADLLYV
Sbjct:     13 CTFHEEFKQVLLPLVYSVVFLLGLPLNAVVIGQIWLARKALTRTTIYMLNLAMADLLYVC 72

Query:     75 -LPFLIITYSLDDRWPFGELLCKLVHFLFYINLYGSILLLTCISVHQFLGVCHPLCSLPY 133
               LP LI  Y+  D WPFG+  CK V F FY NL+GSIL LTCISV +++G+CHPL S
Sbjct:     73 SLPLLIYNYTQKDYWPFGDFTCKFVRFQFYTNLHGSILFLTCISVQRYMGICHPLASWHK 132

Query:    134 RT-RRHAWLGTSTTWALVVLQLLPTLAFSHTDYINGQMIWYDMTSQENFDRLFAYGIVLT 192
              +  ++  WL  +  W +V+ Q LPT  F+ T     + + YD++  +     F YGI LT
Sbjct:    133 KKGKKLTWLVCAAVWFIVIAQCLPTFVFASTGTQRNRTVCYDLSPPDRSTSYFPYGITLT 192

Query:    193 LSGFL 197
              ++GFL
Sbjct:    193 ITGFL 197
```

図9

```
>sp|O02824|A1AA_RABIT ALPHA-1A ADRENERGIC RECEPTOR (ALPHA 1A-ADRENOCEPTOR)
           (ALPHA-1C ADRENERGIC RECEPTOR).
           Length = 466

 Score = 295 (103.8 bits), Expect = 1.0e-31, Sum P(2) = 1.0e-31
 Identities = 66/215 (30%), Positives = 113/215 (52%)

Query:     8 STRESNSSHTCMPLSKMPISLAHGIIRSTVLVIFLAASFVGNIVLALVLQRKPQLLQVTN 67
             S   S+SS+   P +  P++++  I+   +L   +    +GNI++ L +     L  VT+
Sbjct:     5 SGNASDSSNCTHPPA--PVNISKAILLGVILGGLILFGVLGNILVILSVACHRHLHSVTH 62

Query:    68 RFIFNLLVTDLLQISLVAPWVVATSVPLFWPLNSHFCTALVSLTHLFAFASVNTIVVVSV 127
              +I NL V DLL  S V P+     +  +W     FC    ++  L   AS+ ++ V+S+
Sbjct:    63 YYIVNLAVADLLLTSTVLPFSAIFEILGYWAFGRVFCNIWAAVDVLCCTASIISLCVISI 122

Query:   128 DRYLSIIHPLSYPSKMTQRRGYLLLYGTWIVAILQSTPPLYGWGQAAFDERNALCSMIWG 187
             DRY+ + +PL YP+ +TQRRG   L   W  +++ S  PL+GW Q A D+   +C +
Sbjct:   123 DRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGLRALLCVWAFSLVISVGPLFGWRQPAPDDET-ICQI--N 179

Query:   188 ASPSYTILSVVSFIVIPLIVMIACYSVVFCAARRQ 222
               P Y + S +    +PL +++A Y  V+  A+R+
Sbjct:   180 EEPGYVLFSALGSFYVPLTIILAMYCRVYVVAKRE 214

 Score = 106 (37.3 bits), Expect = 1.0e-31, Sum P(2) = 1.0e-31
 Identities = 23/75 (30%), Positives = 41/75 (54%)

Query:   396 KAAKVIFIIIFSYVLSLGPYCFLAVLAVWVDVETQVPQWVITIIIWLFFLQCCIHPYVYG 455
             KAAK + I++  +VL   P+  +  +  +   + + P+ V  I+ WL +L  CI+P +Y
Sbjct:   269 KAAKTLGIVVGCFVLCWLPFFLVMPIGSFFP-DFKPPETVFKIVFWLGYLNSCINPIIYP 327

Query:   456 YMHKTIKKEIQDMLK 470
                +  KK  Q++LK
Sbjct:   328 CSSQEFKKAFQNVLK 342
```

図１０

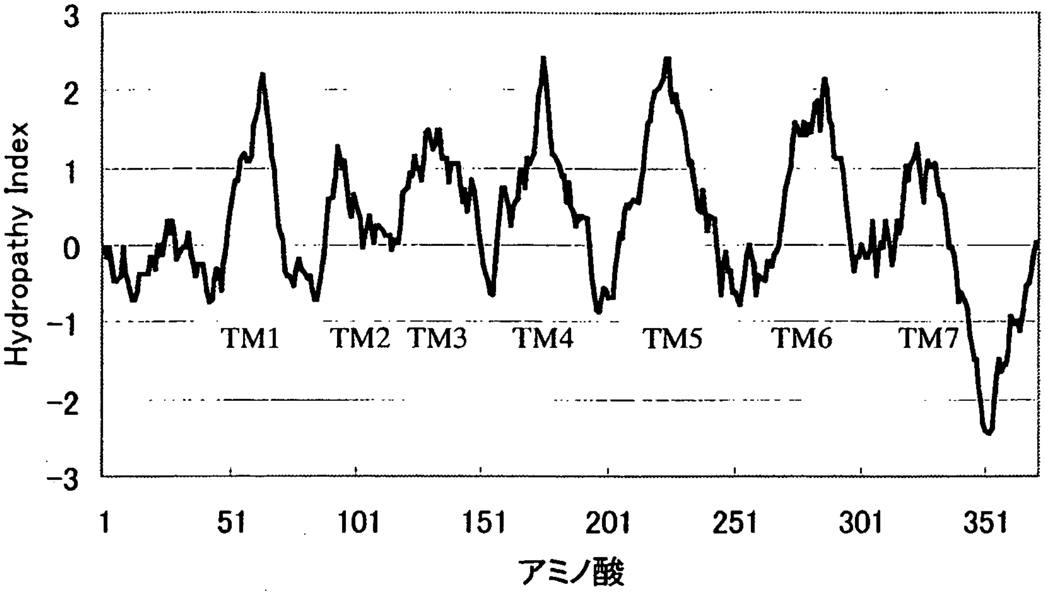

Hydropathy Index
3
2
1
0
−1
−2
−3
TM1
TM2
TM3
TM4
TM5
TM6
TM7
1
51
101
151
201
251
301
351
アミノ酸

図１１

```
                                                                    ########
X64878          MEGALAAN---WSA-EAA-NASAAPPGAEG-----NRTAGPPRRNEALARVEVAVLCLIL
U82440          MEGELAAN---WST-EAV-NSSAAPPGAEG-----NCTAGPPRRNEALARVEVAVLCLIL
X93313          MEGLCLNL---DCS-ELP-NSSWVNSSMENQNHSSNSTRDPLKRNEEVAKVEVTVLALIL
X87783          MEEMFKEQDF-WSFNESSRNSTVGNETFGG-----NQTVNPLKRNEEVAKVEVTVLALVL
AF184966        -------------------MEKPGNITLHP------NGSDPFGRNEEVAQIEIMVLSITF
X76321          -------------------MGRIANQTTAS------NDTDPFGRNEEVAKMEITVLSVTF
AF147743        MKNFSFPMQD-STHQTESPPHRLLSLTNKS------DPVGRPERDEQLAQVEIAVLGVIF
GPRv8           MPANFTEGSFDSSGTGQTLDSSPVACTETVTFTEVVEGKEWGSFYYSFKTEQLITLWVLF
AE003754        -----------------------------------MKCDHTLFFALFQTEQFAVLWILF
                                               .   :. .* : :

                TM1 ###########            ######## TM2 #######
X64878          LLALSGNACVLLALRTTRQKHSRLFFFMKHLSIADLVVAVFQVLPQLLWDITFRFYGPDL
U82440          FLALSGNACVLLALRTTRHKHSRLFFFMKHLSIADLVVAVFQVLPQLLWDITFRFYGPDL
X93313          FLALAGNICVLLGIYINRHKHSRMYFFMKHLSIADLVVAIFQVLPQLIWDITFRFYAPDL
X87783          FLALAGNLCVLIAIYTAKHTQSRMYYLMKHLSIADLVVAVFQVLPQLIWDITFRFYGPDF
AF184966        VVAVIGNVSVLLAMYNTKKKMSRMHLFIKHLSLADLVVAFFQVLPQLCWEITYRFFGPDF
X76321          FVAVIGNLSVLLAMHNTKKKSSRMHLFIKHLSLADMVVAFFQVLPQLCWEITFRFYGPDF
AF147743        LTASVGNFILILVLWRRRKKLSRMYVFMLHLSIADLVVAFFQVLPQLIWDITDVFIGPDF
GPRv8           VFTIVGNSVVLFSTWR-RKKKSRMTFFVTQLAITDSFTGLVNILTDINWRFTGDFTAPDL
AE003754        TVIVLGNSAVLFVMFINKNRKSRMNYFIKQLALADLCVGLLNVLTDIIWRITISWRAGNL
                     **  :::     ::  **:  :: :*:::*  ....::*.:: * :*  : . ::

                 @########## TM3 ###########                ########## TM4 #
X64878          LCRLVKYLQVVGMFASTYLLLLMSLDRCLAICQPLRSLRRRT--DRLAVLATWLGCLVAS
U82440          LCRLVKYLQVVGMFASTYLLLLMSLDRCLAICQPLRSLRRRT--DRLAVLATWLGCLVAS
X93313          VCRLVTYLQVVGMFASTYMLLLMSLDRCLAICQPLRSLHRRS--DCVYVLFTWILSFLLS
X87783          LCRLVKYLQTVGMFASTYMLVLMSIDRCIAICQPLRSLHKRK--DRCYVIVSWALSLVFS
AF184966        LCRIVKHLQVTGMFASTYMMVMMTLDRYIAICHPLKTLQQPTQRSYIMIVSTWMCSLVFS
X76321          LCRIVKHLQVLGMFASTYMMVMMTLDRYIAICHPLKTLQQPTQRAYIMIGSTWLCSLLLS
AF147743        LCRIIKYLQLLGMFASTYMIVVMTVDRYQAVCYPMVTFQKKRALWNIPICTSWSISLILS
GPRv8           VCRVVRYLQVVLLYASTYVLVSLSIDRYHAIVYPMKFLQGEKQ-ARVLIVIAWSLSFLFS
AE003754        ACKAIRFSQVCVTYSSTYVLVAMSIDRYDAITHPMNFSKSWKR-ARHLVAGAWLISALFS
                 *: : . *    ::***::: :::**  *:  *:   :         :  :*  . : *

                ##########          @           ########## TM5 #############
X64878          APQVHIFSLREVADG--VFDCWAVFIQP--WGPKAYITWITLAVYIVPVIVLATCYGLIS
U82440          APQVHIFSLREVADG--VFDCWAVFIQP--WGPKAYITWITLAVYIVPVIVLAACYGLIS
X93313          TPQTVIFSLTEVGNG--VYDCRADFIQP--WGPKAYITWITLAVYIIPVMILSVCYGLIS
X87783          VPQVYIFSLREIGNG--VYDCWGDFVQP--WGAKAYITWISLTIYIIPVAILGGCYGLIS
AF184966        TPQYFIFSLSEVKNGSTVKDCWAHFIEP--WGARAYITWITGGIFLVPVVILVMCYGFIC
X76321          TPQYFIFSLSEIQNGSYVYDCWGHFIEP--WGIRAYITWITVGIFLIPVIILMICYGFIC
AF147743        LPQVFIFSKIEISPG--IFECWAEFIQP--WGPRAYVTWILVVIFFIPSTILITCQVKIC
GPRv8           IPTLIIFGKRTLSNG--EVQCWALWPDDSYWTP--YMTIVAFLVYFIPLTIISIMYGIVI
AE003754        LPILVLYEEKLIQGH---PQCWIELGSPIAWQV--YMSLVSATLFAIPALIISACYAIIV
                 *   ::    :       :*     .   *    *:: :   :: :*  ::      :
```

図１２

```
                                                                ######## TM6
X64878         FKIWQNLRLKTAAAAAAEAPEGAAAGDGGRVALARVSSVKLISKAKIRTVKMTFIIVLAF
U82440         FKIWQNLRLKTAAAAAAEAPEGAAAGDGGRMALARVSSVKLISKAKIRTVKMTFIIVLAF
X93313         YKIWQNIRLKTVCESNLRLST------SRRATLSRVSSVRLISKAKIRTVKMTFIIVLAY
X87783         FKIWQNFKRKTKKDQCITLTTAA----SKANALARVSSVKLVSKAKITTVKMTFVIVLAY
AF184966       HTIWKNIKYKKRKTIPGAAS------KNGLIGKNSVSSVTTISRAKLRTVKMTFVIVLAY
X76321         HSIWKNIKCK---TMRGTRNT-----KDGMIGKVSVSSVTIISRAKLRTVKMTLVIVLAY
AF147743       KIIKRNIYVKKQNEYQVTNQ--------KQVLPSRASSVNCISKAMIKTVKMTIVTVVAY
GPRv8          RTIWIKSKTYETVISNCSDG-----------KLCSSYNRGLISKAKIKAIKYSIIIILAF
AE003754       KTIWAKGSIFVPTERAGFGA----------APARRASSRGIIPRAKVKTVKMTLTIVFVF
                 *  :                               .   :.:* : ::* ::  :..:

               ################          ########### TM7 #########
X64878         IVCWTPFFFVQMWSVWDANAPK---EASAFIIVMLLASLNSCCNPWIYMLFTGHLFHELV
U82440         IVCWTPFFFVQMWSVWDANAPK---EASAFIIVMLLASLNSCCNPWIYMLFTGHLFHELV
X93313         IVCWTPFFFVQMWSVWDPNPPK---EASLFIIAMLLGSLNSCCNPWIYMLFTGHLFHDLL
X87783         IVCWTPFFFVQMWSAWDPEAPR---EAMPFIISMLLASLNSCCNPWIYMFFAGHLFHDLK
AF184966       IICWAPFFTVQMWSVWDENFQYADSENTAVTISALLASLNSCCNPWIYMIFSGHLLQDFM
X76321         IVCWAPFFIVQMWSVWDENFSWDDSENAAVTLSALLASLNSCCNPWIYMLFSGHLLYDFL
AF147743       VLCWSPFFIAQLWSVWFPSGIT---EGSAFTIIMLLGNLNSCTNPWIYMYFCGHIPY---
GPRv8          ICCWSPYFLFDILDNFNLLPDT-QERFYASVIIQNLPALNSAINPLIYCVFSSSISFP--
AE003754       IICWSPYIIFDLLQVFGQIPHS-QTNIAIATFIQSLAPLNSAANPLIYCLFSSQVFRTLS
               : **:*::  :: . :        .      :   *  ***. ** **  * . :

X64878         QR-----FLCCSASYLKGRRLG--ETSASKKSN-------SSSFVLSHRSSSQRSCSQPS
U82440         QR-----FLCCSASYLKGNRLG--ETSTSKKSN-------SSSFVLSHRSSSQRSCSQPS
X93313         QS-----FLCCSARYLKTQQQGS-DLSASRKSN-------SSTFVLSRKSSSQKSITQPS
X87783         QS-----LLCCSTLYLKSSQCRCDQEHDSRKSN-------CSTYVIKSTSS-QRSITQSS
AF184966       NC-----FAWCRRANADFKKED--SDSSIRRTT-------LLTKMTN-RSPTGSTGNWRD
X76321         RC-----FPCCKKPRNMLQKED--SDSSIRRNT-------LLTKLAAGRMTNDGFGSWRD
AF147743       ----------CTNKQLENTSAQ--EDSVVTGS----------IHLVD-RDPEENSTCA--
GPRv8          ----------CREQRSQDSRMT----FRERTER-------HEMQILS--KP-EF------
AE003754       RFPPFKWFTCCCKSYRNNSQQNRCHTVGRRLHNSCDSMRTLTTSLTVSRRSTNKTNARVV
                         *                                 :     .

X64878         TA----------------------------------------------------------
U82440         TA----------------------------------------------------------
X93313         TA----------------------------------------------------------
X87783         IT----------------------------------------------------------
AF184966       LDNSPK--TSIQME----------------------------------------------
X76321         PCNSRKSSQSIGLDCFCKSSQCLEHDCSRKSSQCIPLDCSRKSSQCIPLDCSRKSSQCMS
AF147743       ------------------------------------------------------------
GPRv8          ------------------------------------------------------------
AE003754       ICERPTKVVTVPAMSERRGVSLKGNTDIL-------------------------------

X64878         ---
U82440         ---
X93313         ---
X87783         ---
AF184966       ---
X76321         KES
AF147743       ---
GPRv8          ---
AE003754       ---
```

図１３

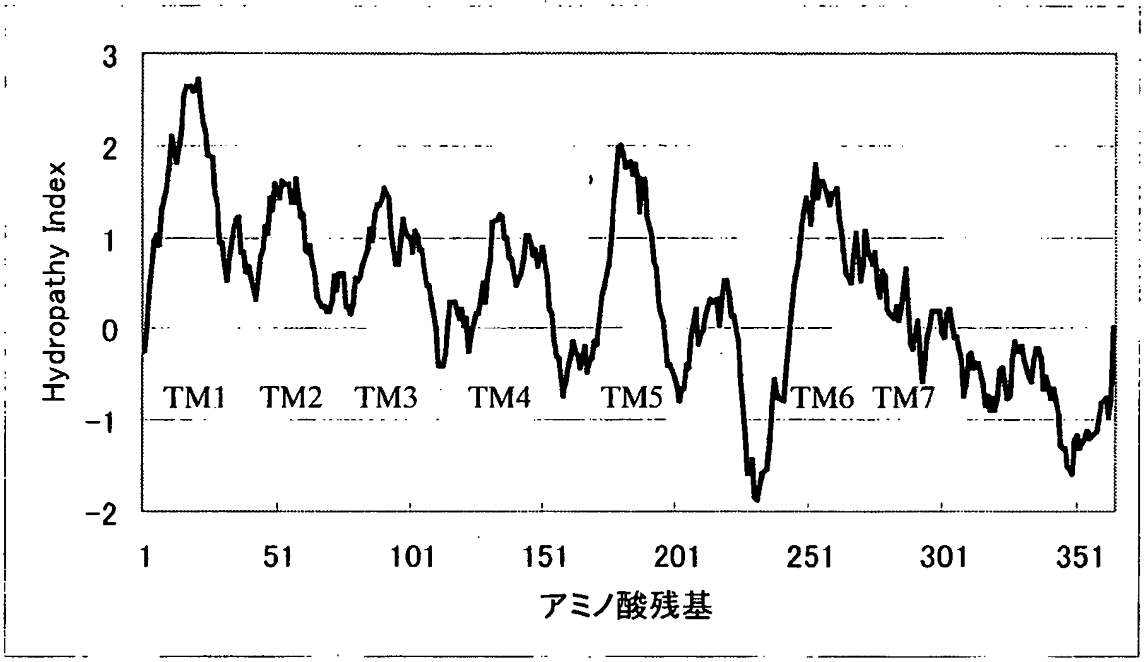

3
2
1
0
-1
-2
Hydropathy Index
TM1
TM2
TM3
TM4
TM5
TM6
TM7
1
51
101
151
201
251
301
351
アミノ酸残基

図１４

```
                       ########### TM1 ###########          ########## TM2 ###
GPRv12_ORF        MGPGEALLAGLLVMVLAVALLSNALVLLCCAYSAELRTRASGVLLVNLSLGHLLLAALDM
AF208288          MNSWDAGLAGLLVGTIGVSLLSNGLVLLCLLHSADIRRQAPALFTLNLTCGNLLCTVVNM
                  *.. :* ****** .:.*:****.*****  :**::* :*..:: :**: *:** :.::*

                  ########          @########## TM3 ###########
GPRv12_ORF        PFTLLGVMRGRTPSAPGACQVIGFLDTFLASNAALSVAALSADQWLAVGFPLRYAGRLRP
AF208288          PLTLAGVVAQRQPAGDRLCRLAAFLDTFLAANSMLSMAALSIDRWVAVVFPLSYRAKMRL
                  *:** **:  * *:.   *:: .*******:*: **:**** *:*:** *** * .::*

                    ######### TM4 ########           @               #########
GPRv12_ORF        RYAGLLLGCAWGQSLAFSGAALGCSWLGYSSAFASCSLRLPPEPERPRFAAFTATLHAVG
AF208288          RDAAFMVAYTWLHALTFPATALALSWLGFHQLYASCTLCSRRPDERLRFAVFTSAFHALS
                  * *.:::. :* ::*:*..:**. ****: . :***:*      ** ***.**:::**:.

                  TM5 ###########                                           ##
GPRv12_ORF        FVLPLAVLCLTSLQVHRVARRHCQRMDTVTMKALALLADLHPSVRQRCLIQQKRRRHRAT
AF208288          FLLSFIVLCFTYLKVLKVARFHCKRIDVITMQTLVLLVDIHPSVRERCLEEQKRRRQRAT
                  *:*.: ***:* *:* :*** **:*:*. :**::*.**.*:*****:*** :*****:***

                  ###### TM6 ###########           ######### TM7 ##########
GPRv12_ORF        RKIGIAIATFLICFAPYVMTRLAELVPFVTVNAQWGILSKCLTYSKAVADPFTYSLLRRP
AF208288          KKISTFIGTFLVCFAPYVITRLVELFSTAPIDSHWGVLSKCLAYSKAASDPFVYSLLRHQ
                  :**.  *.***:******:***.**.. ..::::**:*****:****.:***.*****:


GPRv12_ORF        FRQVLAGMVHRLLKRTPRPASTHDSSLDVAGMVHQLLKRTPRPASTHNGSVDTENDSCLQ
AF208288          YRRSCKELLNRIFNRR----SIHSVGLTGDSHSQNILPVSE-------------------
                  :*:    :::*:::*     * *. .*   .  :::*  :


GPRv12_ORF        QTH
AF208288          ---
```

図１５

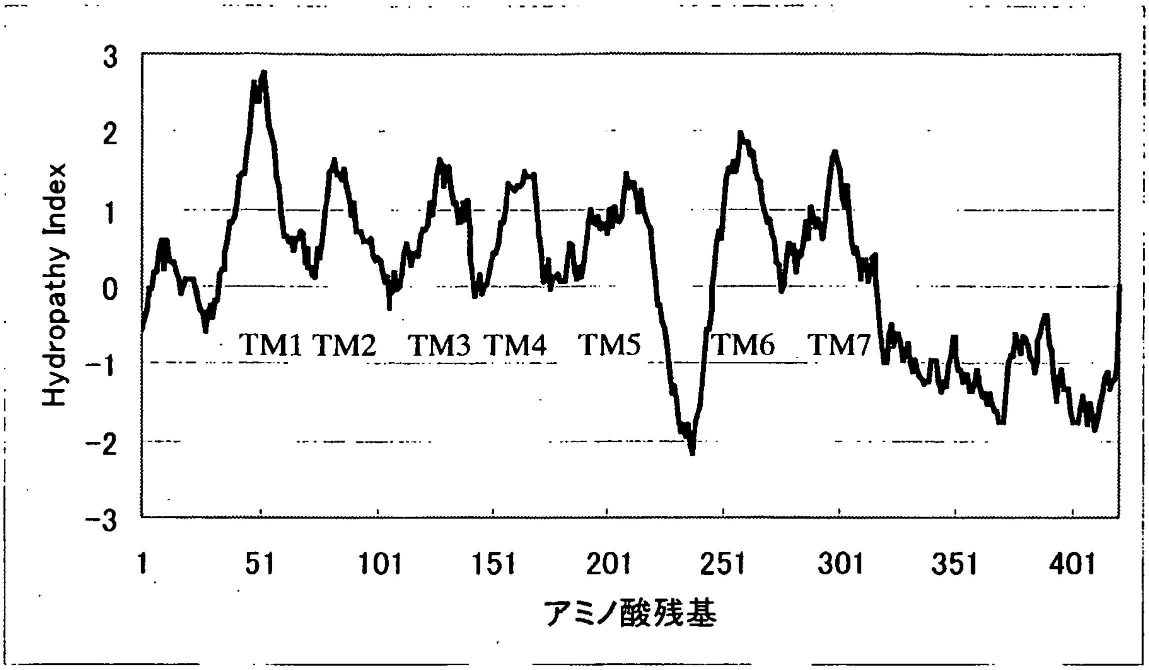

Hydropathy Index
3
2
1
0
−1
−2
−3
TM1
TM2
TM3
TM4
TM5
TM6
TM7
1
51
101
151
201
251
301
351
401
アミノ酸残基

図１６

```
                                                         *******
                                           ########     TM1   ######
1   MLAAAFADSN SSSMNVSFAH LHFAGGYLPS DSQDWRTIIP ALLVAVCLVG FVGNLCVIGI 60

    *****************************************************************
    ##              #####   TM2   #####
61  LLHNAWKGKP SMIHSLILNL SLADLSLLLF SAPIRATAYS KSVWDLGWFV CKSSDWFIHT 120

    **************                       ****************************
    @##### TM3 ##########               #####    TM4   #########
121 CMAAKSLTIV VVAKVCFMYA SDPAKQVSIH NYTIWSVLVA IWTVASLLPL PEWFFSTIRH 180

    *****************************************************************
          @           ########   TM5   ############
181 HEGVEMCLVD VPAVAEEFMS MFGKLYPLLA FGLPLFFASF YFWRAYDQCK KRGTKTQNLR 240

    *****************************************************************
           ##########   TM6    ##########             ######## TM7 ##
241 NQIRSKQVTV MLLSIAIISA VLWLPEWVAW LWVWHLKAAG PAPPQGFIAL SQVLMFSISS 300

    ******
    #########
301 ANPLIFLVMS EEFREGLKGV WKWMITKKPP TVSESQETPA GNSEGLPDKV PSPESPASIP 360

361 EKEKPSSPSS GKGKTEKAEI PILPDVEQFW HERDTVPSVQ DNDPIPWEHE DQETGEGVK  419
```

図１７

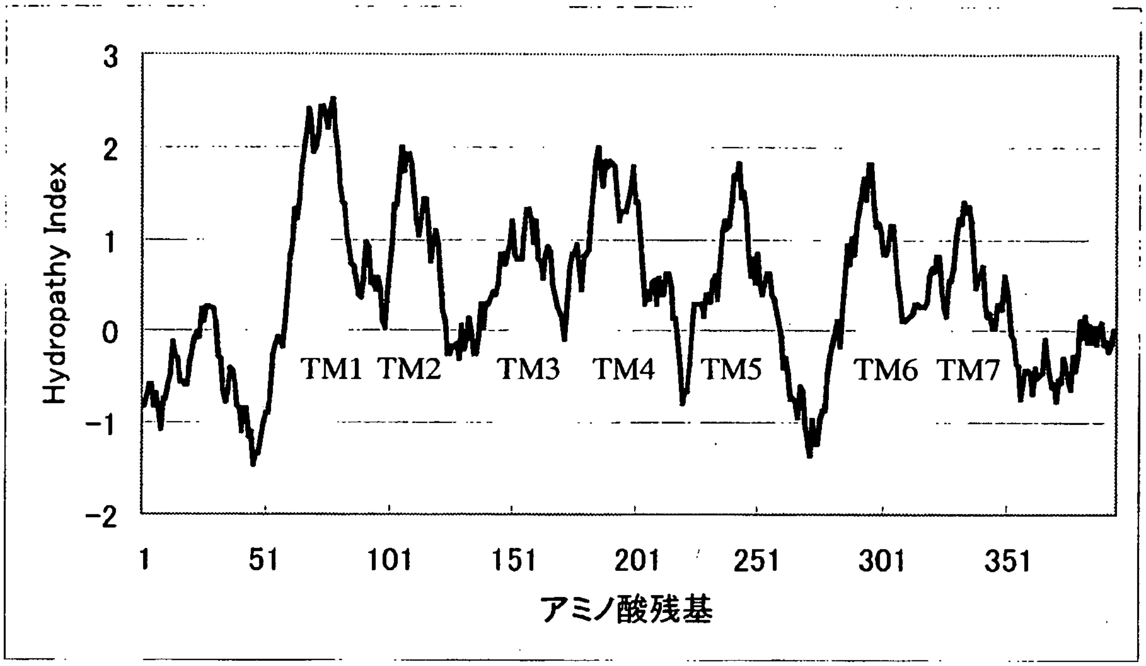

Hydropathy Index
3
2
1
0
-1
-2
TM1
TM2
TM3
TM4
TM5
TM6
TM7
1
51
101
151
201
251
301
351
アミノ酸残基

図18

```
GPRv21          -----------------------METTMGFMDDNATNTSTSFLSVLNPHGAHA-TSFPFN
AL121755        ------------------------------------------------------------
AF236082        -----------------------METTVGALGENTTDTFTDFFSALDGHEAQT-GSLPFT
U42766          ---------------------------MGPIGAEADENQTVEEMKVEQYGP---------
U76254          ---------------------------MGPIGAEADENQTVEEMKVEQYGP---------
U42389          ---------------------------MGPIGAEADENQTVEEMKVEQYGP---------
U50144          -------------------------MKMGPLGAEADENQTVEEMKVDQFGPG--------
D86238          -----------------------MVLKMGPVGAEADEN-QTVEVKVEPYGPG--------
M81490          MYYIAHQQPMLRNEDDNYQEGYFIRPDPASLIYNTTALPADDEGSNYGYGSTT-TLSGLQ
AF037444        --MSMANSENSTSLFGIKRHADVTGPHSASHDVIDPSNTSVYYDHASNYESVLSTTSTLM

                                                             ########### TM1
GPRv21          FSYSDYDMPL-----DEDEDVTNSR--------TFFAAKIVIGMALVGIMLVCGIGNFIF
AL121755        --YGDYDLPM-----DEDEDMTKTR--------TFFAAKIVIGIALAGIMLVCGIGNFVF
AF236082        FSYGDYDMPL-----DEEEDVTNSR--------TFFAAKIVIGMALVGIMLVCGIGNFIF
U42766          QTTPRGELVP-----DPEPELIDST--------KLIEVQVVLILAYCSIILLGVIGNSLV
U76254          QTTPRGELVP-----DPEPELIDST--------KLIEVQVVLILAYCSIILLGVIGNSLV
U42389          QTTPRGELVP-----DPEPELIDST--------KLIEVQVVLILAYCSIILLGVIGNSLV
U50144          HTTLPGELAP-----DSEPELIDST--------KLIEVQVVLILAYCSIILLGVIGNSLV
D86238          HTTPRGELPP-----DPEPELIDST--------KLVEVQVILILAYCSIILLGVVGNSLV
M81490          FETYNITVMMNFSCDDYDLLSEDMW--------SSAYFKIIVYMLYIPIFIFALIGNGTV
AF037444        LKLTDLVTPFNASEPDPESNGSDTDGGHAAISEQPMYAKVIIVLMYVLIILVAVGGNLLF
                               * :    .               :::: :    *::.   **  .
                #######     ####### TM2 ########                     @######
GPRv21          IAALVRYKKLRNLTNLLIANLAISDFLVAIVCCPFEMDYYVVRQLSWEHGHVLCTSVNYL
AL121755        IAALTRYKKLRNLTNLLIANLAISDFLVAIICCPFEMDYYVVRQLSWEHGHVLCASVNYL
AF236082        ITALARYKKLRNLTNLLIANLAISDFLVAIVCCPFEMDYYVVRQLSWEHGHVLCASVNYL
U42766          IHVVIKFKSMRTVTNFFIANLAVADLLVNTLCLPFTLTYTLMG--EWKMGPVLCHLVPYA
U76254          IHVVIKFKSMRTVTNFFIANLAVADLLVNTLCLPFTLTYTLMG--EWKMGPVLCHLVPYA
U42389          IHVVIKFKSMRTVTNFFIANLAVADLLVNTLCLPFTLTYTLMG--EWKMGPVLCHLVPYA
U50144          IHVVIKFKSMRTVTNFFIANLAVADLLVNTLCLPFTLTYTLMG--EWKMGPVLCHLVPYA
D86238          IHVVIKFKSMRTVTNFFIANLAVADLLVNTLCLPFTLTYTLMG--EWKMGPVLCHLVPYA
M81490          CYIVYSTPRMRTVTNYFIASLAIGDILMSFFCEPSSFISLFILN-YWPFGLALCHFVNYS
AF037444        SYVIVMYPKMRSVTNLFLLNLAISDIVKAVICNPFAFIANLILL-YWPYGEFMCQVVTYI
                   :     :*.:** :: .**:.*::   .* *  :   .:    *  *  :*  * *

                ## TM3 ##########                ######### TM4 ##########
GPRv21          RTVSLYVSTNALLAIAIDRYLAIVHPLRPRMKCQTATGLIALVWTVSILIAIPSAYFTTE
AL121755        RTVSLYVSTNALLAIAIDRYLAIVHPLKPRMNYQTASFLIALVWMVSILIAIPSAYFATE
AF236082        RTVSLYVSTNALLAIAIDRYLAIVHPLRPRMKCQTAAGLIFLVWSVSILIAIPAAYFTTE
U42766          QGLAVQVSTITLTVIALDRHRCIVYHLESKISKRISFLIIGLAWGISALLASPLAIFREY
U76254          QGLAVQVSTITLTVIALDRHRCIVYHLESKISKRISFLIIGLAWGISALLASPLAIFREY
U42389          QGLAVQVSTITLTVIALDRHRCIVYHLESKISKRISFLIIGLGWRISALLASPLAIFREY
U50144          QGLAVQVSTITLTVIALDRHRCIVYHLESKISKQISFLIIGLAWGVSALLASPLAIFREY
D86238          QGLAVQVSTITLTVIALDRHRCIVYHLESKISKRISFLIIGLAWGISALLASPLAIFREY
M81490          QAVSVLVSAYTLVAISIDRYIAIMWPLKPRITKRYATFIIAGVWFIALATALPIPIVSGL
AF037444        QVVAVFLSAFTLVAMSVDRYVAILKPMRPRLSKRAFAITMATIWILSLSAPLPTAITSRV
                : ::: :*: :* .:::**: .*:  :..::  :     :   * ::   . * .
```

図１９

```
                               @          ######### TM5 #############
GPRv21          TVLVIVKSQ--EKIFCGQIWPVDQQ-LYYKSYFLFIFGIEFVGPVVTMTLCYARISRELW
AL121755        TVLFIVKSQ--EKIFCGQIWPVDQQ-LYYKSYFLFIFGVEFVGPVVTMTLCYARISRELW
AF236082        TVLVIVERQ--EKIFCGQIWPVDQQ-FYYRSYFLLVFGLEFVGPVVAMTLCYARVSRELW
U42766          SLIEIIPDF--EIVACTEKWPGEEKSIYGTVYSLSSLLILYVLPLGIISFSYTRIWSKLK
U76254          SLIEIIPDF--EIVACTEKWPGEEKSIYGTVYSLSSLLILYVLPLGIISFSYTRIWSKLK
U42389          SLIEIIPDF--EIVPCTEKWPAEEKSIYGTVYSLSSLLILYVLPLGIISFSYTRIWSKLK
U50144          SLIEIIPDF--EIVACTEKWPGEEKGIYGTIYSLSSLLILYVLPLGIISFSYTRIWSKLK
D86238          SLIEIIPDF--EIVACTEKWPGEEKSVYGTVYSLSTLLILYVLPLGIISFSYTRIWSKLR
M81490          DIPMSPWHTKCEKYICREMWPSRSQ---EYYYTLSLFALQFVVPLGVLIFTYARITIRVW
AF037444        TKQSNSTGL------CLEHFENDHN---RYIYSIVIMMLQYFVPLAVITVTNTHIGYIVW
                               * : :    : .    * :  : : :. *: .: .  :::   :

                                          ######### TM6 #######
GPRv21          FKAVPG-FQTEQIRKRLRCRRKTVLVLMCILTAYVLCWAPFYGFTIVRDFFPTVFVKEKH
AL121755        FKAVPG-FQTEQIRKRLRCRRKTVLVLMCILTAYVLCWAPFYGFTIVRDFFPTVFVKEKH
AF236082        FKAVPG-FQTEQIRRTVRCRRRTVLGLVCVLSAYVLCWAPFYGFTIVRDFFPSVFVKEKH
U42766          NHVSPG-AANDHYHQR---RQKTTKMLVCVVVVFAVSWLPLHAFQLAVD-IDSQVLDLKE
U76254          SHVSPG-AANDHYHQR---RQKTTKMLVCVVVVFAVSWLPLHAFQLAVD-IDSQVLDLKE
U42389          NHVSPG-AANDHYHQR---RQKTTKMLVCVVVVFAVSWLPLHAFQLAVD-IDSQVLDLKE
U50144          NHVSPG-AAHDHYHQR---RQKTTKMLVCVVVVFAVSWLPLHAFQLAVD-IDSHVLDLKE
D86238          NHVSPG-AASDHYHQR---RHKMTKMLVCVVVVFAVSWLPLHAFQLAVD-IDSHVLDLKE
M81490          AKRPPGEAETNRDQRMARSKRKMVKMMLTVVIVFTCCWLPFNILQLLLN--DEEFAHWDP
AF037444        IKKTPGEAEEDRDRRMAASKRRLVKMIIIVVVIYAVCWLPVHVITLVGD-HNPDIYNQPH
                 :  **    :: ::    ::: .  :: ::  :. .* *.  : :  :     . .

                         ######## TM7 #########
GPRv21          YLTAFYIVECIAMSNSMINTLCFVTVKNDTVKYFKKIML---------LHWKASYNGGKS
AL121755        YLTAFYVVECIAMSNSMINTVCFVTVKNNTMKYFKKMML---------LHWRPSQRGSKS
AF236082        YLTAFYVVECIAMSNSMINTLCFVTVRNNTSKYLKRILR---------LQWRASPSGSKA
U42766          YKLIFTVFHIIAMCSTFANPLLYGWMNSNYRKAFLSAFR---------CEQRLDAIHSEV
U76254          YKLIFTVFYIIAMCSTFANPLLYGWMNSNYRKAFLSAFR---------CEQRLDAIHSEV
U42389          YKLIFTVFHIIAMCSTFANPLLYGWMNSNYRKAFLSAFR---------CEQRLDAIHSEV
U50144          YKLIFTVFHIIAMCSTFANPLLYGWMNSNYRKAFLSAFR---------CEQRLDAIHSEV
D86238          YKLIFTVFHIIAMCSTFANPLLYGWMNSNYRKAFLSAFR---------CEQRLDAIHSEV
M81490          LPYVWFAFHWLAMSHCCYNPIIYCYMNARFRSGFVQLMHRMPGLRRWCCLRSVGDRMNAT
AF037444        MNVVWLCAQWLAMSHSCYNPFVYFSLSATFRRNLRRMTHACRLKQKR-LRQHLSMRSSRA
                    :     :**.    *.. :  :       :                   .   .

GPRv21          S------------ADLDLKTIGM---PATEEVDCIRLK---------------------
AL121755        S------------ADLDLRTNGV---PTTEEVDCIRLK---------------------
AF236082        S------------ADLDLRTTGI---PATEEVDCIRLK---------------------
U42766          SVTFKAK------KNLEVRKNSG---PNDSFTEATNV----------------------
U76254          SVTFKAK------KNLEVRKNSG---PNDSFTEATNV----------------------
U42389          SVTFKAK------KNLEVRKNSG---PNDSFTEATNV----------------------
U50144          SVTFKAK------KHLQVTKNNG---PNDSFTETTNV----------------------
D86238          SMTFKAK------KNLEVKKNNG---PTDSFSEATNV----------------------
M81490          SGTGPALPLN--RMNTSTTYISARRKPRATSLRANPLSCGETSPLR-------------
AF037444        DAWDRDTEVYGSAESIPSKVSAGSLHSSNRGAKHVNTSSGEWQCLKEKKLKGVSNDMYL
                .                        .
```

図２０

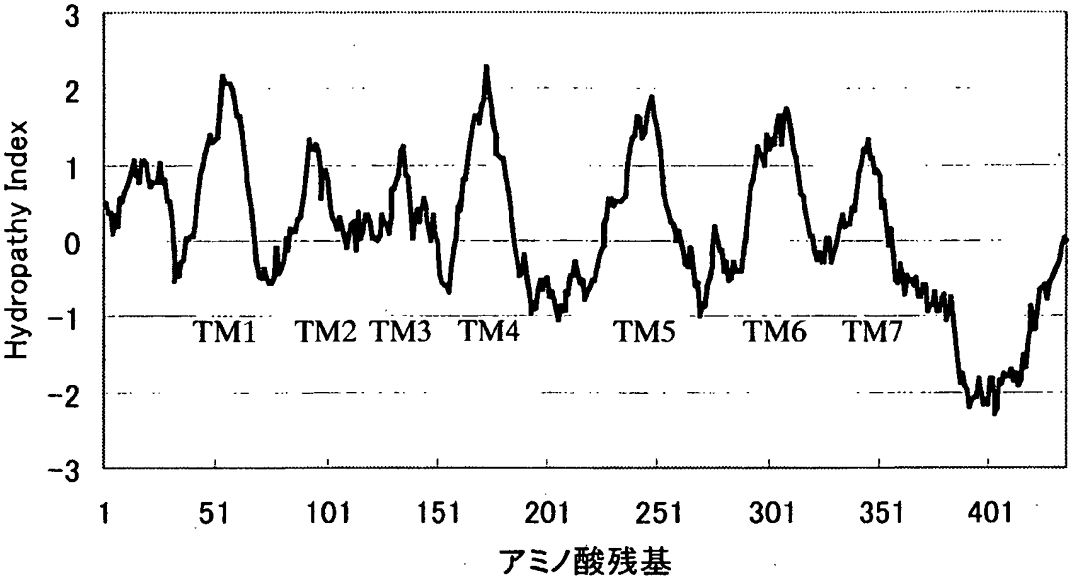
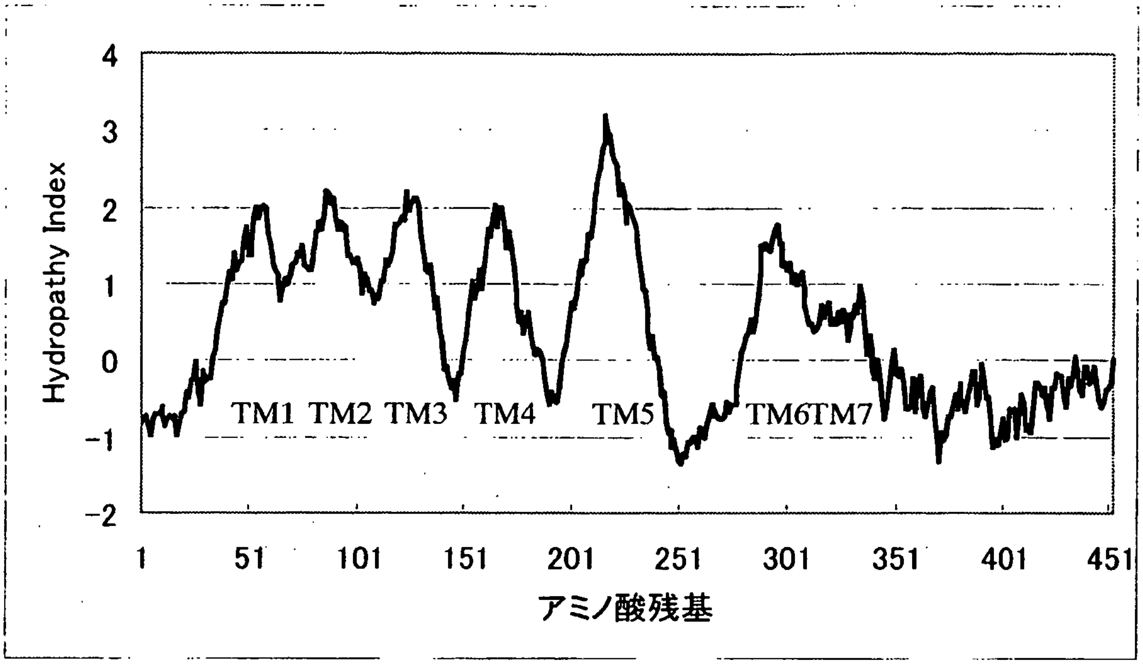

Hydropathy Index
3
2
1
0
-1
-2
-3
TM1
TM2
TM3
TM4
TM5
TM6
TM7
1
51
101
151
201
251
301
351
401
アミノ酸残基

図２１

```
                                                                   **
                                                    #######   TM1  ##
1   MEDLFSPSIL PPAPNISVPI LLGWGLNLTL GQGAPASGPP SRRVRLVFLG VILVVAVAGN 60

    *****************************************************************
    ####                     ########   TM2   #########
61  TTVLCRLCGG GGPWAGPKRR KMDFLLVQLA LADLYACGGT ALSQLAWELL GEPRAATGDL 120

    *****************************************************************
     @ #####   TM3   ##########                   #######   TM4  ####
121 ACRFLQLLQA SGRGASAHLV VLIALERRRA VRLPHGRPLP ARALAALGWL LALLLALPPA 180

    *
                                                       **************
    ###                                    @            ######### TM5
181 FVVRGDSPSP LPPPPPPTSL QPGAPPAARA WPGQRRCHGI FAPLPRWHLQ VYAFYEAVAG 240

    *****************************************************************
    ############                                              #####
241 FVAPVTVLGV ACGHLLSVWW RHRPQAPAAA APWSASPGRA PAPSALPRAK VQSLKMSLLL 300

    *********************************************************
    # TM6 #########                    #######  TM7   ##########
301 ALLFVGCELP YFAARLAAAW SSGPAGDWEG EGLSAALRVV AMANSALNPF VYLFFQAGDC 360

361 RLRRQLRKRL GSLCCAPQGG AEDEEGPRGH QALYRQRWPH PHYHHARREP LDEGGLRPPP 420

421 PRPRPLPCSC ESAF
```

図２２



4
3
2
1
0
-1
-2
Hydropathy Index
TM1
TM2
TM3
TM4
TM5
TM6
TM7
1
51
101
151
201
251
301
351
401
451
アミノ酸残基

図２３

```
HSH2R_1      ------------------------------------------------------------
D49783       ------------------------------------------------------------
M32701       ------------------------------------------------------------
U25440       ------------------------------------------------------------
S57565       ------------------------------------------------------------
S73473       ------------------------------------------------------------
M74716       ------------------------------------------------------------
U64032       MTFRDLLSVTFEGPRPDISAGGSGAGGGAGAGAGAGDTASSESPAVGGVPGAAGGGGGGS
L41147       ------------------------------------------------------------
GPRv47       ------------------------------------------------------------
D43633       ------------------------------------------------------------

                                                                     ###
HSH2R_1      ---------------------NG---------TASSFCLDSTACKIT----------ITV
D49783       --------------MAP----NG---------TASSFCLDSTACKIT----------ITV
M32701       --------------MIS----NG---------TGSSFCLDSPPCRIT----------VSV
U25440       --------------MAF----NG---------TVPSFCMDFTVYKVT----------ISV
S57565       --------------MEP----NG---------TVHSCCLDSMALKVT----------ISV
S73473       --------------MAPWPHKNGS-----LAFWSDAPTLDPSAANTSGLPG-VPW-AAAL
M74716       --------------MAPWPHKNGS-----LAFWSDAPTLDPSAANTSGLPG-VPW-AAAL
U64032       VVGAGSGEDNRSSAGEPGGAGGGGE----VNGTAAVGGLVVSAQSVG----------VGV
L41147       --------------MVP---EPGPT----ANSTPAWGAGPPSAPGGSG--------WVAA
GPRv47       ------------MESSPIPQSSGNSSTLGRVPQTPGPSTASGVPEVGLRDV-ASESVALF
D43633       ---------MMADKTSPMITSDHSISNFSTGLFGPHPTVPPDVGVVTSSQSQMKDLFGLF

             ### TM1 ########                          ####### TM2 ######
HSH2R_1      VLAVLILITVAGNVVVCLAVGLNRRLRNLTNCFIVSLAITDLLLGLLVLPFSAIYQLSCK
D49783       VLAVLILITVAGNVVVCLAVGLNRRLRNLTNCFIVSLAITDLLLGLLVLPFSAIYQLSCK
M32701       VLTVLILITIAGNVVVCLAVGLNRRLRSLTNCFIVSLAITDLLLGLLVLPFSAFYQLSCR
U25440       ILIILILVTVAGNVVVCLAVGLNRRLRSLTNCFIVSLAVTDLLLGLLVLPFSAIYQLSCK
S57565       VLTTLILITIAGNVVVCLAVSLNRRLRSLTNCFIVSLAATDLLLGLLVLPFSAIYQLSFT
S73473       AGALLALATVGGNLLVITAIARTPRLQTITNVFVTSLATADLVVGLLVMPPGATLALTGH
M74716       AGALLALATVGGNLLVITAIARTPRLQTITNVFVTSLATADLVVGLLVMPPGATLALTGH
U64032       FLAAFILTAVAGNLLVILSVACNRHLQTVTNYFIVNLAVADLLLSATVLPFSATMEVLGF
L41147       ALCVVIALTAAANSLLIALICTQPALRNTSNFFLVSLFTSDLMVGLVVMPPAMLNALYGR
GPRv47       FMLLLDLTAVAGNAAVMAVIAKTPALRKFVFVFHLCLVDLLAALTLMPLAMLSSSALFDH
D43633       CMVTLNLIALLANTGVMVAIARAPHLKKFAFVCHLCAVDVLCAILLMPLGIISSSPFFGT
                 .   :  .*  :   :     *:.              :    :       .

             ###     @######### TM3 ########                    ##### TM4
HSH2R_1      WSFGKVFCNIYTSLDVMLCTASILNLFMISLDRYCAVMDPLRYPVLVTPARVAISLVLIW
D49783       WSFGKVFCNIYTSLDVMLCTASILNLFMISLDRYCAVMDPLRYPVLVTPVRVAISLVLIW
M32701       WSFGKVFCNIYTSLDVMLCTASILNLFMISLDRYCAVTDPLRYPVLITPVRVAVSLVLIW
U25440       WSFSKVFCNIYTSLDVMLCTASILNLFMISLDRYCAVTDPLRYPVLITPARVAISLVFIW
S57565       WSFGHVFCNIYTSLDVMLCTASILNLFMISLDRYCAVTDPLRYPVLVTPVRVAISLVFIW
S73473       WPLGATGCELWTSVDVLCVTASIETLCALAVDRYLAVTNPLRYGTLVTKRRARAAVVLVW
M74716       WPLGATGCELWTSVDVLCVTASIETLCALAVDRYLAVTNPLRYGTLVTKRRARAAVVLVW
U64032       WAFGRAFCDVWAAVDVLCCTASILSLCTISVDRYVGVRHSLKYPAIMTERKAAAILALLW
L41147       WVLARGLCLLWTAFDVMCCSASILNLCLISLDRYLLILSPLRYKLRMTPLRALALVLGAW
GPRv47       ALFGEVACRLYLFLSVCFVSLAILSVSAINVERYYYVVHPMRYEVRMTLGLVASVLVGVW
D43633       VVFTILECQVYIFLNVFLIWLSILTITAISVERYFYIVHPMRYEVKMTINLVIGVMLLIW
               :    * ::  ..*     :*.:  :  ::**  :  .::*   :*   .   :   *
```

図２４

```
                ############                     @           ####### TM5 ########
HSH2R_1         VISITLSFLSIHLGWN---SRNETSKGNHTTSKCN-----VQVNEVYGLVDGLVTFYLPLLIMCI
D49783          VISITLSFLSIHLGWN---SRNETSKGNHTTSKCK-----VQVNEVYGLVDGLVTFYLPLLIMCI
M32701          VISITLSFLSIHLGWN---SRNETSSFNHTIPKCK-----VQVNLVYGLVDGLVTFYLPLLVMCI
U25440          VISITLSFLSIHLGWN---SRNETSKDNDTIVKCK-----VQVNEVYGLVDGLVTFYLPLLIMCI
S57565          VISITLSFLSIHLGWN---SRNGTRGGN-DTFKCK-----VQVNEVYGLVDGLVTFYLPLLIMCV
S73473          IVSATVSFAPIMSQWWRVGADAEAQECHSNPRCCS-----FASNMPYALLSSSVSFYLPLLVMLF
M74716          IVSATVSFAPIMSQWWRVGADAEAQECHSNPRCCS-----FASNMPYALLSSSVSFYLPLLVMLF
U64032          AVALVVS-MGPLLGWK------EPVPPD--ERFC-----GITEEVGYAVFSSLCSFYLPMAVIVV
L41147          SLAALASFLPLLLGWH-----ELGHARPPVPGQC-----RLLASLPFVLVASGLTFFLPSGAICF
GPRv47          VKALAMASVPVLGRVS-WEEGAPSVPPG-----CSLQWSHSAYCQLFVVVFAVLYFLLPLLLILV
D43633          FKSLLLA-LVTLFGWPPYGHQSSIAASH-----CSLHASHSRLRGVFAVLFCVICFLAPVVVIFS
                  :   :                          *            : :.     *  *   :

                #
HSH2R_1         TYYRIFRVARDQAKRID-HIS-------------SWKAATIR------------------
D49783          TYYRIFKVARDQAKRIN-HIS-------------SWKAATIR------------------
M32701          TYYRIFKIARDQAKRIH-HMG-------------SWKAATIG------------------
U25440          TYFRIFKIAREQARRIN-HIG-------------SWKAATIR------------------
S57565          TYYRIFKIAREQAKRIN-HIS-------------SWKAATIR------------------
S73473          VYARVFVVAKRQRRLLRRELGRFPPEESPRSPSRSPSPATVGTPTAS-----DGVPSCGR
M74716          VYARVFVVAKRQRRFVRRELGRFPPEESPRSPSRSPSPATVGTPTAS-----DGVPSCGR
U64032          MYCRVYVVARSTTRSLEAGVKRERGKASEVVLRIHCRGAASGADGAPGTRGAKGHTFRSS
L41147          TYCRILLAARKQAVQVASLTTG----------MASQASETLQVPRTP--R--PGVESADS
GPRv47          VYCSMFRVARVAAMQHGPLPTWMETP--------RQRSESLSSR--S-----TMVTSSGA
D43633          VYSAVYKVARSAALQQVPAVPTWADAS-----PAKDRSDSINSQTT------IITTRTLP
                 *  :   *:                             :
                              ######### TM6 #######              ###########
HSH2R_1         ----------EHRATVTLAAVMGAFIICWFPYFTAFVYRGLRGDDAINEMLEAIVLWLGY
D49783          ----------EHKATVTLAAVMGAFIICWFPYFTAFVYRGLRGDDAINEVLEAIVLWLGY
M32701          ----------EHKATVTLAAVMGAFIICWFPYFTVFVYRGLKGDDAINEAFEAVVLWLGY
U25440          ----------EHKATVTLAAVMGAFIICWFPYFTVFVYRGLKGDDAVNEVFEDVVLWLGY
S57565          ----------EHKATVTLAAVMGAFIICWFPYFTAFVYRGLRGDDAINEAVEGIVLWLGY
S73473          RPARLLPLG-EHRALRTLGLIMGIFSLCWLPFFLANVLRALVGPSLVPSGVFIALNWLGY
M74716          RPARLLPLG-EHRALRTLGLIMGIFSLCWLPFFLANVLRALVGPSLVPSGVFIALNWLGY
U64032          LSVRLLKFSREKKAAKTLAIVVGVFVLCWFPFFFVLPLGSLFPQLKPSEGVFKVIFWLGY
L41147          RRLATKHSRKALKASLTLGILLGMFFVTWLPFFVANIVQAVC--DCISPGLFDVLTWLGY
GPRv47          PQTTPHRTFGGGKAAVVLLAVGGQFLLCWLPYFSFHLYVALSAQPISTGQVESVVTWIGY
D43633          QRLSPERAFSGGKAALTLAFIVGQFLVCWLPFFIFHLQMSLTGSMKSPGDLEEAVNWLAY
                            :*  .*  : * * : *:*:*      .:         .   : *:.*

                TM7 #########
HSH2R_1         ANSALNPILYAALNRDFRTGYQQLFCCRLANRNSHKTSLRSNASQLSRTQSREPR----Q
D49783          ANSALNPILYAALNRDFRTGYQQLFCCRLANRNSHKTSLRSNASQLSRTQSREPR----Q
M32701          ANSALNPILYATLNRDFRTAYQQLFRCRPASHNAQETSLRSNSSQLARNQSREPM----R
U25440          ANSALNPILYAALNRDFRTAYHQLFCCRLASHNSHETSLRLNNSQLNRSQCQEPR----W
S57565          ANSALNPILYAALNRDFRTAYQQLFHCKFASHNSHKTSLRLNNSLLPRSQSREGR----W
S73473          ANSAFNPLIYCR-SPDFRDAFRRLL-CSYGGRGPEEP--RVVTFPASPVASR--------
M74716          ANSAFNPLIYCR-SPDFRDAFRRLL-CSYGGRGPEEP--RVVTFPASPVASR--------
U64032          FNSCVNPLIYPCSSREFKRAFLRLLRCQCRRRRRRRPLWRVYGHHWRASAGGGPHPDCAL
L41147          CNSTMNPIIYPLFMRDFKRALGRFLPCPRCPRERQAS-LASPSLRTSHSGPRPGLS---L
GPRv47          FCFTSNPFFYGCLNRQIRGELSKQFVCFFKPAPEEELRLPSREGSIEENFLQ-------F
D43633          SSFAVNPSFYGLLNRQIRDELVKFRRCCVTQPVEIGP--SSLEGSFQENFLQ-------F
                     ** :*     :::    :   *
```

図２５

```
HSH2R_1     QEEKPLKLQVWSGTEVT-------------------------------------------
D49783      QEEKPLKLQVWSGTEVTAPQGATDR-----------------------------------
M32701      QEEKPLKLQVWSGTEVTAPRGATDR-----------------------------------
U25440      QEDKPLNLQVWSGTEVTAPQGATNR-----------------------------------
S57565      QEEKPLKLQVWSGTELTHPQGNPIR-----------------------------------
S73473      QNS-PLNR--FDGYEGERP-FPT-------------------------------------
M74716      QNS-PLNR--FDGYEGERP-FPT-------------------------------------
U64032      SAGAALPGAALALTAAPAPSSAAAPEGQAAGAGRRKPPCAFREWRLLGPLRRPTTQLRAK
L41147      QQVLPLPLPPDSDSDSDAGSGGSSGLRLTAQLLLPGEATQDPPLPTRAAAAVNFFNIDPA
GPRv47      LQGTGCPSESWVSRPLPSPKQEPPAVDFRIPGQIAEETSEFLEQQLTSDIIMSDSYLRPA
D43633      IQRTSSSSETHPSFANSNP-RNMENQAHKIPGQIPEEQA---------------------

HSH2R_1     -----------------------------------------------------------
D49783      -----------------------------------------------------------
M32701      -----------------------------------------------------------
U25440      -----------------------------------------------------------
S57565      -----------------------------------------------------------
S73473      -----------------------------------------------------------
M74716      -----------------------------------------------------------
U64032      VSSLSHKIRAGGAQRAEAACALRSEVEAVALSVARDVAEDNTCQAYELADYRNLRETDI
L41147      EPELRPHPLGIPTN---------------------------------------------
GPRv47      ASPRLES----------------------------------------------------
D43633      -----------------------------------------------------------
```

図２６

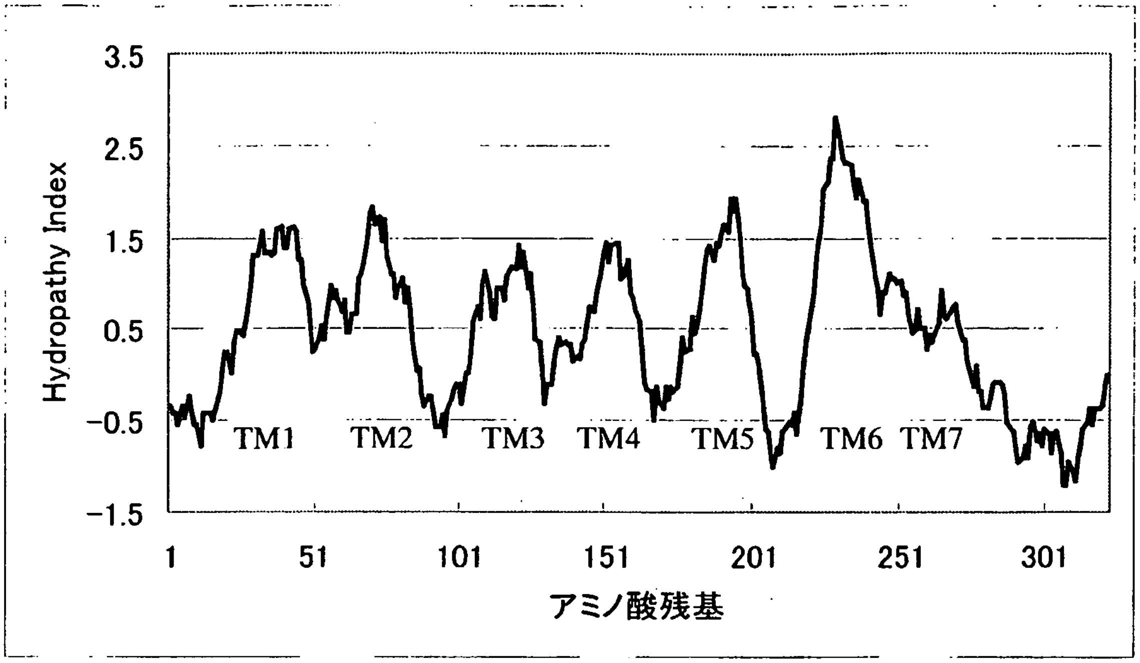

Hydropathy Index
3.5
2.5
1.5
0.5
−0.5
−1.5
TM1
TM2
TM3
TM4
TM5
TM6
TM7
1
51
101
151
201
251
301
アミノ酸残基

図２７

```
                                                                            ########## TM1 #
GPRv51          -----------------MNQTLNSSGTVESALNYSRGSTVHTAYLVLSSLAMFTCLCGMA
M35297          MAGNCSWEAHSTNQNKMCPGMSEALELYSRGFLTIEQIATLPPPAVTNYIFLLLCLCGLV
                            **.  ..*  *:   ****  .     .*..      : :: ****:.

                ######                ######## TM2 #########
GPRv51          GNSMVIWLLGFRMHRNPFCIYILNLAAADLLFLFSMASTLSLETQPLVN-TTDKVHELMK
M35297          GNGLVLWFFGFSIKRTPFSIYFLHLASADGIYLFSKAVIALLNMGTFLGSFPDYVRRVSR
                **.:*:*::** ::*.**.**:*:**:** ::*** *    *:  .::.  .* *:.: :

                   ######## TM3 ########                        ######## TM4 #######
GPRv51          RLMYFAYTVGLSLLTAISTQRCLSVLFPIWFKCHRPRHLSAWVCGLLWTLCLLMNGLTSS
M35297          IVGLCTFFAGVSLLPAISIERCVSVIFPMWYWRRRPKRLSAGVCALLWLLSFLVTSIHNY
                 :   :: .*:***.*** :**:**:**:*:  :**::*** **.*** *.:*:..: .

                #                 ######### TM5 ########
GPRv51          FCSKFLKFNE-DRCFRVDMVQAALIMGVLTPVMTLSSLTLFVWVRRSSQQWRRQPTRLFV
M35297          FCMFLGHEASGTACLNMDISLGILLFFLFCPLMVLPCLALILHVECRARRRQRS-AKLNH
                **  : :  .   *:.:*:  . *:: :: *:*.*..*:*:: *.  ::: :*. ::*

                  ######## TM6 #########                    ######### TM7 #######
GPRv51          VVLASVLVFLICSLPLSIYWFVLYWLSLPPEMQVLCFSLSRLSSSVSSSANPVIYFLVGS
M35297          VVLAIVSVFLVSSIYLGIDWFLFWVFQIP---APFPEYVTDLCICINSSAKPIVYFLAGR
                **** * ***:.*: *.* **::: :.:*     :   :: *. .:.***:*::***.*

GPRv51          RRSHRLPTRSLGTVLQQALRE--EPELEGGETPTVGTNEMGA------
M35297          DKSQRLWEP-LRVVFQRALRDGAEPGDAASSTPNTVTMEMQCPSGNAS
                 :*:**    * .*:*:***:  **   ...**.. * ** .
```

図２８

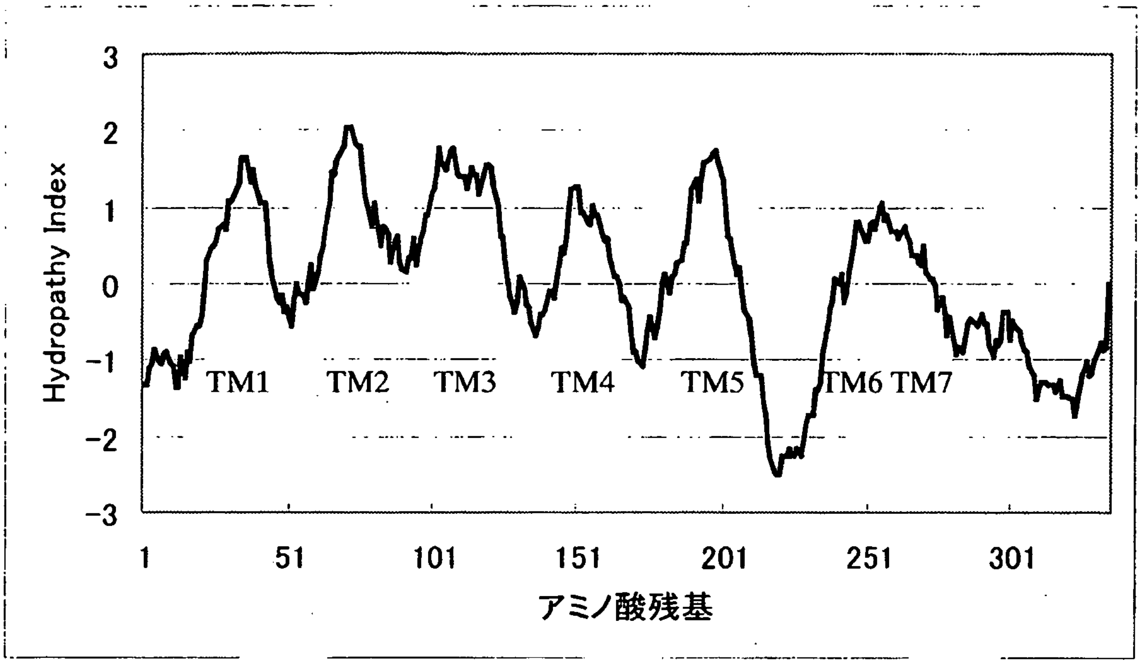

3
2
1
0
−1
−2
−3
Hydropathy Index
TM1
TM2
TM3
TM4
TM5
TM6
TM7
1
51
101
151
201
251
301
アミノ酸残基

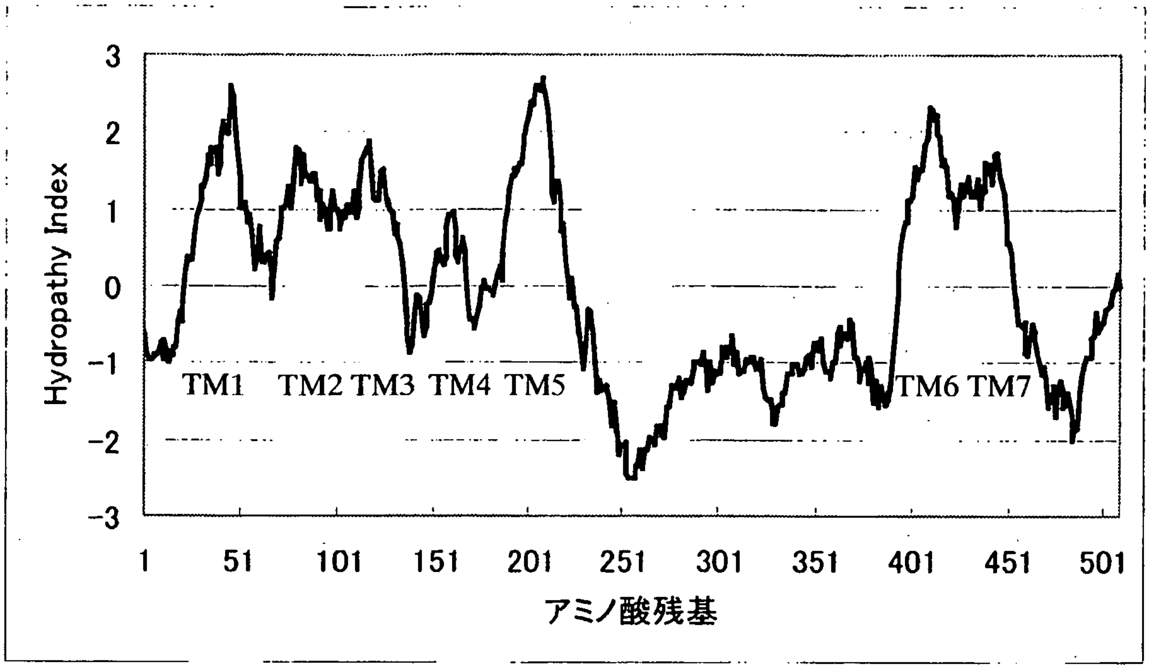
図２９

```
                                                                ######### TM1 ##
Y14705              ------------MTSAESLLFTSLGPSPSSGDGDCRFNEEFKFILLPMSYAVVFVLGLAL
AJ277752            ------------MTSADSLLFTSLGPSPSSGDGDCKFNEEFKFILLPLSYAVVFVLGLAL
AF031897            --MDAPVRMFSLAPWTPTPTPWLGGNTTAAAEAKCVFNEEFKFILLPISYGIVFVVGLPL
X99953              MTEDIMATSYPTFLTTPYLPMKLLMNLTNDTEDICVFDEGFKFLLLPVSYSAVFMVGLPL
AF069555            -------------MSMANFTA---GR------NSCTFQEEFKQVLLPLVYSVVFLLGLPL
X98283              -------------MSMANFTG---GR------NSCTFHEEFKQVLLPLVYSVVFLLGLPL
D63665              -------------MERDNGTIQAPGLPP----TTCVYREDFKRLLLPPVYSVVLVVGLPL
GPRv71              ------------MEKVDMNTSQ--EQ------GLCQFSEKYKQVYLSLAYSIIFILGLPL
                                                      * : * :* : *.  *. ::::**.*
                    #####              ######## TM2 ########                ####
Y14705              NAPTLWLFLFRLRPWDATATYMFHLALSDTLYVLSLPTLVYYYAARNHWPFGTGLCKFVR
AJ277752            NAPTLWLFLFRLRPWDATATYMFHLALSDTLYVLSLPTLVYYYAARNHWPFGTGFCKFVR
AF031897            NSWAMWIFVSRMRPWNATTTYMFNLAISDTLYVFSLPTLVYYYADRNNWPFGKVFCKIVR
X99953              NIAAMWIFIAKMRPWNPTTVYMFNLALSDTLYVLSLPTLVYYYADKNNWPFGEVLCKLVR
AF069555            NAVVIGQIWLARKALTRTTIYMLNLATADLLYVCSLPLLIYNYTQKDYWPFGDFTCKFVR
X98283              NAVVIGQIWLARKALTRTTIYMLNLAMADLLYVCSLPLLIYNYTQKDYWPFGDFTCKFVR
D63665              NVCVIAQICASRRTLTRSAVYTLNLALADLLYACSLPLLIYNYARGDHWPFGDLACRLVR
GPRv71              NGTVLWHFWGQTKRWSCATTYLVNLMVADLLYVL-LPFLIITYSLDDRWPFGELLCKLVH
                    *  .:  :    :    :: * .:*  :* **.  ** *:  *:  : ****   *::*:

                    ###TM3 #############                      ######## TM4 #####
Y14705              FLFYWNLYCSVLFLTCISVHRYLGICHPLRAIRWGRPR-FASLLCLGVWLVVAGCLVPNL
AJ277752            FLFYWNLYCSVLFLTCISVHRYMGICHPLRAIRWGRPR-FAGLLCLGVWLVVAGCLVPNL
AF031897            FLFYANLYSSILFLTCISVHRYMGICHPIRSLKWVKTK-HARLICVGVWLVVTICLIPNL
X99953              FLFYANLYSSILFLTCISVHRYRGVCHPITSLRRMNAK-HAYVICALVWLSVTLCLVPNL
AF069555            FQFYTNLHGSILFLTCISVQRYMGICHPLASWHKKKGKKLTWLVCAAVWFIVIAQCLPTF
X98283              FQFYTNLHGSILFLTCISVQRYMGICHPLASWHKKKGKKLTWLVCAAVWFIVIAQCLPTF
D63665              FLFYANLHGSILFLTCISFQRYLGICHPLAPWHKRGGRRAAWVVCGVVWLVVTAQCLPTA
GPRv71              FLFYINLYGSILLLTCISVHQFLGVCHPLCSLPYRTRR-HAWLGTSTTWALVVLQLLPTL
                    * ** **: *:*:*****.::: *:***: .      :  : :    .*  *    :*.

                    ##                        ######### TM5 #######
Y14705              FFVTTNANGTTILCHDTTLPEEFDHYVYFSSAVMVLLFGLPFLITLVCYGLMARRLYRPL
AJ277752            FFVTTNANGTTILCHDTTLPEEFDHYVYFSSTIMVLLFGFPFLITLVCYGLMARRLYRPL
AF031897            IFVTTSSKDNSTLCHDTTKPEEFDHYVHYSSSIMALLFGIPFLVIVVCYCLMAKRLCKRS
X99953              IFVTVSPKVKNTICHDTTRPEDFARYVEYSTAIMCLLFGIPCLIIAGCYGLMTRELMKPI
AF069555            VFASTGTQRNRTVCYDLSPPDRSASYFPYGITLTITGFLLPFAAILACYCSMARILCQKD
X98283              VFASTGTQRNRTVCYDLSPPDRSTSYFPYGITLTITGFLLPFAAILACYCSMARILCQKD
D63665              VFAATGIQRNRTVCYDLSPPILSTRYLPYGMALTVIGFLLPFTALLACYCRMARRLCRQD
GPRv71              AFSHTDYINGQMIWYDMTSQENFDRLFAYGIVLTLSGFLSLLGHFGVLFTDGQEPDQARG
                     *  ..      : :* :        . :.  :    *          :    .

                                  ######## TM6 #########                      ##
Y14705              PGAGQS---SSRLRSLRTIAVVLTVFAVCFVPFHITRTIYYQAR-LLQADCHVLNIVNVV
AJ277752            PGAGQS---SSRLRSLRTIAVVLTVFAVCFVPFHITRTIYYLAR-LLNAECRVLNIVNVV
AF031897            FPSPSPRVPSYKKRSIKMIIIVLTVFAICFVPFHITRTLYYTSR-YFQADCQTLNIINFT
X99953              VSGNQQTLPSYKKRSIKTIIFVMIAFAICFMPFHITRTLYYYAR-LLGIKCYALNVINVT
AF069555            ELIGLAVH-KKKDKAVRMIIIVVIVFSISFFPFHLTKTIYLIVRSSPTLPCPTLQAFAIA
X98283              ELIGLAVH-KKKDKAVRMIIIVVIVFSISFFPFHLTKTIYLIVRSSASLPCPTLQAFAIA
D63665              GPAGPVAQ-ERRSKAARMAVVVAAVFVISFLPFHITKTAYLAVRSTPGVSCPVLETFAAA
GPRv71              EPHEDRQHSPSQVHPDHPTGVWPLHPLFCALPYHSLLLPHHLLSAFSGLPALDGSQCGLQ
                               : :. :   .      .. .*:*     :          .   .
```

図３０

```
                ##### TM7 #########
Y14705          YKVTRPLASANSCLDPVLYLFTGDKYRNQLQQLCRGSK--PKPR----------TAASSL
AJ277752        YKVTRPLASANSCLDPVLYLFTGDKYRNQLQQLCRGST--PKRR----------TTASSL
AF031897        YKITRPLASINSCLDPILYFMAGDKYRGRLRRGAAQR---P-R-----------PVPTSL
X99953          YKVTRPLASANSCIDPILYFLANDRYRRRLIRTVRRRSSVPNRRCMHTNHPQTEPHMTAG
AF069555        YKCTRPFASMNSVLDPILFYFTQRKFRESTRYLLDKMS----------------SKWRHD
X98283          YKCTRPFASMNSVLDPILFYFTQRKFRESTRYLLDKMS----------------SKWRQD
D63665          YKGTRPFASANSVLDPILFYFTQQKFRRQPHDLLQKLT----------------AKWQRQ
GPRv71          DMEASGECEQLPQPSPVLSFKGGKNRVRLLQKLRQNKLG--------------EHPAGRK
                   :   ..  .  .*:*      .

Y14705          ALVTLHEESISRWADTHQDSTFSAYEGDRL------------------------------
AJ277752        ALVTLHEESISRWADIHQDSIFPAYEGDRL------------------------------
AF031897        LALVSPSVDSSVVGSCCNSE----SRGMGTVWSRGGQ-----------------------
X99953          PLPVISAEEIPSNGSMVRDENGEGSREHRVEWTDTKEINQMMNRRSTIKRNSTDKNDMKE
AF069555        HCITYGS-----------------------------------------------------
X98283          HCISYGS-----------------------------------------------------
D63665          RV----------------------------------------------------------
GPRv71          RCPGLNRSG---------------------------------------------------


Y14705          ------------------------------------------------------------
AJ277752        ------------------------------------------------------------
AF031897        ------------------------------------------------------------
X99953          NRHGENYLPYVEVVEKEDYETKRENRKTTEQSSKTNAEQDELQTQIDSRLKRGKWQLSSK
AF069555        ------------------------------------------------------------
X98283          ------------------------------------------------------------
D63665          ------------------------------------------------------------
GPRv71          ------------------------------------------------------------


Y14705          -----------------------------------------------------------
AJ277752        -----------------------------------------------------------
AF031897        -----------------------------------------------------------
X99953          KGAAQENEKGHMEPSFEGEGTSTWNLLTPKMYGKKDRLAKNVEEVGYGKEKELQNFPKA
AF069555        -----------------------------------------------------------
X98283          -----------------------------------------------------------
D63665          -----------------------------------------------------------
GPRv71          -----------------------------------------------------------
```

図３１



Hydropathy Index
3
2
1
0
-1
-2
-3
TM1
TM2
TM3
TM4
TM5
TM6
TM7
1
51
101
151
201
251
301
351
401
451
501
アミノ酸残基

図32

```
                                                      ######### TM1 ########
U03866          ------MVFLSGNAS--DSSNCTQPPAP-----VNISKAILLGVILGGLILFGVLGNILV
L31774          ------MVFLSGNAS--DSSNCTQPPAP-----VNISKAILLGVILGGLILFGVLGNILV
D25235          ------MVFLSGNAS--DSSNCTQPPAP-----VNISKAILLGVILGGLILFGVLGNILV
D32202          ------MVFLSGNAS--DSSNCTQPPAP-----VNISKAILLGVILGGLILFGVLGNILV
D32201          ------MVFLSGNAS--DSSNCTQPPAP-----VNISKAILLGVILGGLILFGVLGNILV
AF013261        ------MVFLSGNAS--DSSNCTQPPAP-----VNISKAILLGVILGGLILFGVLGNILV
U81982          ------MVFLSGNAS--DSSNCTHPPAP-----VNISKAILLGVILGGLILFGVLGNILV
U07126          ------MVLLSENAS--EGSNCTHPPAP-----VNISKAILLGVILGGLIIFGVLGNILV
S71323          MVPVLDNMTPSSVTL--NCSNCSHVLAPE----LNTVKAVVLGMVLGIFILFGVIGNILV
D63859          -------MTPSSVTL--NCSNCSHVLAPE----LNTVKAVVLGMVLGIFILFGVIGNILV
AF091890        ------MSLNSSLSCRKELSNLTEEEGG------EGGVIITQFIAIIVITIFVCLGNLVI
GPRv72          ------MTSTCTNST--RESNSSHTCMPLSKMPISLAHGIIRSTVLVIFLAASFVGNIVL
                          .  :     ** :.          .    :     :  :     :**:::

                ###             ########## TM2 ###########         @########
U03866          ILSVACHRHLHSVTHYYIVNLAVADLLLTSTVLPFSAIFEVLGYWAFGRVFCNIWAAVDV
L31774          ILSVACHRHLHSVTHYYIVNLAVADLLLTSTVLPFSAIFEVLGYWAFGRVFCNIWAAVDV
D25235          ILSVACHRHLHSVTHYYIVNLAVADLLLTSTVLPFSAIFEVLGYWAFGRVFCNIWAAVDV
D32202          ILSVACHRHLHSVTHYYIVNLAVADLLLTSTVLPFSAIFEVLGYWAFGRVFCNIWAAVDV
D32201          ILSVACHRHLHSVTHYYIVNLAVADLLLTSTVLPFSAIFEVLGYWAFGRVFCNIWAAVDV
AF013261        ILSVACHRHLHSVTHYYIVNLAVADLLLTSTVLPFSAIFEVLGYWAFGRVFCNIWAAVDV
U81982          ILSVACHRHLHSVTHYYIVNLAVADLLLTSTVLPFSAIFEILGYWAFGRVFCNIWAAVDV
U07126          ILSVACHRHLHSVTHYYIVNLAVADLLLTSTVLPFSAIFEILGYWAFGRVFCNIWAAVDV
S71323          ILSVVCHRHLQTVTYYFIVNLAVADLLLSSTVLPFSAIFEILDRWVFGRVFCNIWAAVDV
D63859          ILSVVCHRHLQTVTYYFIVNLAVADLLLSSTVLPFSAIFEILDRWVFGRVFCNIWAAVDV
AF091890        VVTLYKKSYLLTLSNKFVFSLTLSNFLLSVLVLPFVVTSSIRREWIFGVVWCNFSALLYL
GPRv72          ALVLQRKPQLLQVTNRFIFNLLVTDLLQISLVAPWVVATSVPLFWPLNSHFCTALVSLTH
                 : :  :  *  ::  ::..* ::::*    * *: .  .:   * :.  :*.  . :

                # TM3 #########                     ########## TM4 #########
U03866          LCCTASIMGLCIISIDRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGLMALLCVWALSLVISIGPLFGWR-
L31774          LCCTASIMGLCIISIDRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGLMALLCVWALSLVISIGPLFGWR-
D25235          LCCTASIMGLCIISIDRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGLMALLCVWALSLVISIGPLFGWR-
D32202          LCCTASIMGLCIISIDRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGLMALLCVWALSLVISIGPLFGWR-
D32201          LCCTASIMGLCIISIDRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGLMALLCVWALSLVISIGPLFGWR-
AF013261        LCCTASIMGLCIISIDRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGLMALLCVWALSLVISIGPLFGWR-
U81982          LCCTASIISLCVISIDRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGLRALLCVWAFSLVISVGPLFGWR-
U07126          LCCTASIMGLCIISIDRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGVRALLCVWVLSLVISIGPLFGWR-
S71323          LCCTASIMSLCVISVDRYIGVSYPLRYPAIMTKRRALLAVMLLWVLSVIISIGPLFGWK-
D63859          LCCTASIMSLCVISVDRYIGVSYPLRYPAIMTKRRALLAVMLLWVLSVIISIGPLFGWK-
AF091890        LISSASMLTLGVIAIDRYYAVLYPMVYPMKITGNRAVMALVYIWLHSLIGCLPPLFGWSS
GPRv72          LFAFASVNTIVVVSVDRYLSIIHPLSYPSKMTQRRGYLLLYGTWIVAILQSTPPLYGWGQ
                * . **:  : ::::*** .: :*: **  :* .*.   :   *  ::: .  **:**
```

図３３

```
                ##       @       ######### TM5 ##########
U03866          QPAPEDETICQINE--EPGYVLFSALGSFYLPLAIILVMYCRVYVVAKRESRGLK----S
L31774          QPAPEDETICQINE--EPGYVLFSALGSFYLPLAIILVMYCRVYVVAKRESRGLK----S
D25235          QPAPEDETICQINE--EPGYVLFSALGSFYLPLAIILVMYCRVYVVAKRESRGLK----S
D32202          QPAPEDETICQINE--EPGYVLFSALGSFYLPLAIILVMYCRVYVVAKRESRGLK----S
D32201          QPAPEDETICQINE--EPGYVLFSALGSFYLPLAIILVMYCRVYVVAKRESRGLK----S
AF013261        QPAPEDETICQINE--EPGYVLFSALGSFYLPLAIILVMYCRVYVVAKRESRGLK----S
U81982          QPAPDDETICQINE--EPGYVLFSALGSFYVPLTIILAMYCRVYVVAKRESRGLK----S
U07126          QPAPEDETICQINE--EPGYVLFSALGSFYVPLAIILVMYCRVYVVAKRESRGLK----S
S71323          EPAPEDETVCKITE--EPGYAIFSAVGSFYLPLAIILAMYCRVYVVAQKESRGLK----E
D63859          EPAPEDETVCKITE--EPGYAIFSAVGSFYLPLAIILAMYCRVYVVAQKESRGLK----E
AF091890        VEFDEFKWMCVAAWHREPGYTAFWQIWCALFPFLVMLVCYGFIFRVARVKARKVH----C
GPRv72          AAFDERNALCSMIWGASPSYTILSVVSFIVIPLIVMIACYSVVFCAARRQHALLYNVKRH
                    : : :*      .*.*. :  :    .*: :::. *  :: .*: :   :

                                                                    ########
U03866          GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGMASAKTKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG-
L31774          GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGMASAKTKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG-
D25235          GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGMASAKTKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG-
D32202          GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGMASAKTKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG-
D32201          GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGMASAKTKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG-
AF013261        GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGMASAKTKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG-
U81982          GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGVASAKNKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG-
U07126          GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNVPAEGGGVSSAKNKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG-
S71323          GQKIEKSDSEQVILRMHRGNTTVSED--EALRSRTHFALRLLKFSREKKAAKTLGIVVG-
D63859          GQKIEKSDSEQVILRMHRGNTTVSED--EALRSRTHFALRLLKFSREKKAAKTLGIVVG-
AF091890        GTVVIVEEDAQRTG---RKNSSTSTS--SSGSRRNAFQGVVYSANQCK-ALITILVVLG-
GPRv72          SLEVRVKDCVENEDEEGAEKKEEFQD--ESEFRRQHEGEVKAKEGRMEAKDGSLKAKEGS
                .     .:  :        :     .   :   :        . .: :    ::    *

                ######## TM6 ###############           ############ TM7
U03866          -----CFVLCWLP-----FFLVMPIGSFFPD---FKPSETVFKIVFWLGYLNSCIN----
L31774          -----CFVLCWLP-----FFLVMPIGSFFPD---FKPSETVFKIVFWLGYLNSCIN----
D25235          -----CFVLCWLP-----FFLVMPIGSFFPD---FKPSETVFKIVFWLGYLNSCIN----
D32202          -----CFVLCWLP-----FFLVMPIGSFFPD---FKPSETVFKIVFWLGYLNSCIN----
D32201          -----CFVLCWLP-----FFLVMPIGSFFPD---FKPSETVFKIVFWLGYLNSCIN----
AF013261        -----CFVLCWLP-----FFLVMPIGSFFPD---FKPSETVFKIVFWLGYLNSCIN----
U81982          -----CFVLCWLP-----FFLVMPIGSFFPD---FKPPETVFKIVFWLGYLNSCIN----
U07126          -----CFVLCWLP-----FFLVMPIGSFFPD---FKPSETVFKIVFWLGYLNSCIN----
S71323          -----CFVLCWLP-----FFLVLPIGSIFPA---YRPSDTVFKITFWLGYFNSCIN----
D63859          -----CFVLCWLP-----FFLVLPIGSIFPA---YRPSDTVFKITFWLGYFNSCIN----
AF091890        -----AFMVTWGP-----YMVVIASEALWGK---SSVSPSLETWATWLSFASAVCH----
GPRv72          TGTSESSVEARGSEEVRESSTVASDGSMEGKEGSTKVEENSMKADKGRTEVNQCSIDLGE
                     . :    .        * .  ::           .  .        .
```

図３４

```
                ########
U03866          -PIIYPCSSQEFK----KAFQNVLRIQCLCRKQSSKH---ALGYT-LHPPSQAVEGQHK-
L31774          -PIIYPCSSQEFK----KAFQNVLRIQCLRRKQSSKH---ALGYT-LHPPSQAVEGQHK-
D25235          -PIIYPCSSQEFK----KAFQNVLRIQCLRRKQSSKH---ALGYT-LHPPSQAVEGQHK-
D32202          -PIIYPCSSQEFK----KAFQNVLRIQCLRRKQSSKH---ALGYT-LHPPSQAVEGQHK-
D32201          -PIIYPCSSQEFK----KAFQNVLRIQCLRRKQSSKH---ALGYT-LHPPSQAVEGQHK-
AF013261        -PIIYPCSSQEFK----KAFQNVLRIQCLCRKQSSKH---ALGYT-LHPPSQAVEGQHK-
U81982          -PIIYPCSSQEFK----KAFQNVLKIQCLRRKQSSKH---ALGYT-LHAPSQALEGQHK-
U07126          -PIIYPCSSQEFK----KAFQNVLRIQCLRRRQSSKH---ALGYT-LHPPSQALEGQHR-
S71323          -PIIYLCSNQEFK----KAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHHLSVGQSQTQGHSLTISLDSKG
D63859          -PIIYLCSNQEFK----KAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHHLSVGQSQTQGHSLTISLDSKG
AF091890        -PLIYGLWN--------KTVRKELLGMCFGDRYYREP----FVQR--QRTSRLFSISNR-
GPRv72          DDMEFGEDDINFSEDDVEAVNIPESLPPSRRNSNSNP---PLPRCYQCKAAKVIFIIIFS
                  : :   .        ::..              .     .        :  .

U03866          DMVRIPVGSRETFYRISKTDG--VCEWKFFSSMPRGSARITVSKDQS--SCTTARVRSKS
L31774          DMVRIPVGSRETFYRISKTDG--VCEWKFFSSMPRGSARITVSKDQS--SCTTARVRSKS
D25235          DMVRIPVGSRETFYRISKTDG--VCEWKFFSSMPRGSARITVSKDQS--SCTTARVRSKS
D32202          DMVRIPVGSRETFYRISKTDG--VCEWKFFSSMPRGSARITVSKDQS--SCTTARTKSRS
D32201          DMVRIPVGSRETFYRISKTDG--VCEWKFFSSMPRGSARITVSKDQS--SCTTARGHTPM
AF013261        DMVRIPVGSRETFYRISKTDG--VCEWKFFSSMPRGSARITVSKDQS--SCTTARRGMDC
U81982          DMVRIPVGSGETFYKISKTDG--VCEWKFFSSMPRGSARITVPKDQS--ACTTARVRSKS
U07126          DMVRIPVGSGETFYKISKTDG--VCEWKFFSSMPQGSARITVPKDQS--ACTTARVRSKS
S71323          APCRLSPSSSVALSRTPSSRD--SREWRVFSGGPINSG--PGPTEAG--RAKVAKLCNKS
D63859          APCRLSPSSSVALSRTPSSRD--SREWRVFSGGPINSG--PGPTEAG--RAKVAKLCNKS
AF091890        -ITDLGLSPHLTALMAG--------------GQPLGHS--SSTGDTG--FSCSQDSGN--
GPRv72          YVLSLGPYCFLAVLAVWVDVETQVPQWVITIIIWLFFLQCCIHPYVYGYMHKTIKKEIQD
:      :

U03866          FLQVCCCVGPS-TPSLDKN--HQVPTIKVHTISLSENGEEV-------------------
L31774          FLQVCCCVGPS-TPSLDKN--HQVPTIKVHTISLSENGEEV-------------------
D25235          FLEVCCCVGPS-TPSLDKN--HQVPTIKVHTISLSENGEEV-------------------
D32202          VTRLECSG----MILAHCN--LRLPGSRDSPASASQAAGTTGDVPPGRRHQAQLIFVFLV
D32201          T-----------------------------------------------------------
AF013261        RYFTKNCR----EHIKHVN--FMMPPWRKGLEC---------------------------
U81982          FLQVCCCVGPS-TPNPGEN--HQVPTIKIHTISLSENGEEV-------------------
U07126          FLQVCCCVGSS-APRPEEN--HQVPTIKIHTISLGENGEEV-------------------
S71323          LHRTCCCILRARTPTQDPAPLGDLPTIKIHQLSLSEKGESV-------------------
D63859          LHRTCCCILRARTPTQDPAPLGDLPTIKIHQLSLSEKGESV-------------------
AF091890        -LRAL-------------------------------------------------------
GPRv72          MLKKFFCKEK--PPKEDSH--PDLPGTEGGTEGKIVPSYDSATFP---------------

U03866          -----------------
L31774          -----------------
D25235          -----------------
D32202          ETGFHHVGQDDLDLLTS
D32201          -----------------
AF013261        -----------------
U81982          -----------------
U07126          -----------------
S71323          -----------------
D63859          -----------------
AF091890        -----------------
GPRv72          -----------------
```

SEQUENCE LISTING

<110> HELIX RESEARCH INSTITUTE

<120> Novel G protein-coupled receptors and genes encoding them,
and their production and use.

<130> H1-113DP1PCT

<140>
<141>

<150> JP 1999-375152
<151> 1999-12-28

<150> JP 2000-101339
<151> 2000-03-31

<160> 63

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1
<211> 371
<212> PRT

```
<213> Homo sapiens


<400> 1
Met Pro Ala Asn Phe Thr Glu Gly Ser Phe Asp Ser Ser Gly Thr Gly
1               5                   10                  15

Gln Thr Leu Asp Ser Ser Pro Val Ala Cys Thr Glu Thr Val Thr Phe
            20                  25                  30

Thr Glu Val Val Glu Gly Lys Glu Trp Gly Ser Phe Tyr Tyr Ser Phe
        35                  40                  45

Lys Thr Glu Gln Leu Ile Thr Leu Trp Val Leu Phe Val Phe Thr Ile
    50                  55                  60

Val Gly Asn Ser Val Val Leu Phe Ser Thr Trp Arg Arg Lys Lys Lys
65                  70                  75                  80

Ser Arg Met Thr Phe Phe Val Thr Gln Leu Ala Ile Thr Asp Ser Phe
                85                  90                  95

Thr Gly Leu Val Asn Ile Leu Thr Asp Ile Asn Trp Arg Phe Thr Gly
            100                 105                 110

Asp Phe Thr Ala Pro Asp Leu Val Cys Arg Val Val Arg Tyr Leu Gln
        115                 120                 125
```

Val Val Leu Leu Tyr Ala Ser Thr Tyr Val Leu Val Ser Leu Ser Ile
130 135 140

Asp Arg Tyr His Ala Ile Val Tyr Pro Met Lys Phe Leu Gln Gly Glu
145 150 155 160

Lys Gln Ala Arg Val Leu Ile Val Ile Ala Trp Ser Leu Ser Phe Leu
165 170 175

Phe Ser Ile Pro Thr Leu Ile Ile Phe Gly Lys Arg Thr Leu Ser Asn
180 185 190

Gly Glu Val Gln Cys Trp Ala Leu Trp Pro Asp Asp Ser Tyr Trp Thr
195 200 205

Pro Tyr Met Thr Ile Val Ala Phe Leu Val Tyr Phe Ile Pro Leu Thr
210 215 220

Ile Ile Ser Ile Met Tyr Gly Ile Val Ile Arg Thr Ile Trp Ile Lys
225 230 235 240

Ser Lys Thr Tyr Glu Thr Val Ile Ser Asn Cys Ser Asp Gly Lys Leu
245 250 255

Cys Ser Ser Tyr Asn Arg Gly Leu Ile Ser Lys Ala Lys Ile Lys Ala

260 265 270

Ile Lys Tyr Ser Ile Ile Ile Ile Leu Ala Phe Ile Cys Cys Trp Ser

275 280 285

Pro Tyr Phe Leu Phe Asp Ile Leu Asp Asn Phe Asn Leu Leu Pro Asp

290 295 300

Thr Gln Glu Arg Phe Tyr Ala Ser Val Ile Ile Gln Asn Leu Pro Ala

305 310 315 320

Leu Asn Ser Ala Ile Asn Pro Leu Ile Tyr Cys Val Phe Ser Ser Ser

325 330 335

Ile Ser Phe Pro Cys Arg Glu Gln Arg Ser Gln Asp Ser Arg Met Thr

340 345 350

Phe Arg Glu Arg Thr Glu Arg His Glu Met Gln Ile Leu Ser Lys Pro

355 360 365

Glu Phe Ile

370

<210> 2

<211> 363

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Gly Pro Gly Glu Ala Leu Leu Ala Gly Leu Leu Val Met Val Leu

1 5 10 15

Ala Val Ala Leu Leu Ser Asn Ala Leu Val Leu Leu Cys Cys Ala Tyr

20 25 30

Ser Ala Glu Leu Arg Thr Arg Ala Ser Gly Val Leu Leu Val Asn Leu

35 40 45

Ser Leu Gly His Leu Leu Leu Ala Ala Leu Asp Met Pro Phe Thr Leu

50 55 60

Leu Gly Val Met Arg Gly Arg Thr Pro Ser Ala Pro Gly Ala Cys Gln

65 70 75 80

Val Ile Gly Phe Leu Asp Thr Phe Leu Ala Ser Asn Ala Ala Leu Ser

85 90 95

Val Ala Ala Leu Ser Ala Asp Gln Trp Leu Ala Val Gly Phe Pro Leu

100 105 110

Arg Tyr Ala Gly Arg Leu Arg Pro Arg Tyr Ala Gly Leu Leu Leu Gly

115 120 125

Cys Ala Trp Gly Gln Ser Leu Ala Phe Ser Gly Ala Ala Leu Gly Cys

130 135 140

Ser Trp Leu Gly Tyr Ser Ser Ala Phe Ala Ser Cys Ser Leu Arg Leu

145 150 155 160

Pro Pro Glu Pro Glu Arg Pro Arg Phe Ala Ala Phe Thr Ala Thr Leu

165 170 175

His Ala Val Gly Phe Val Leu Pro Leu Ala Val Leu Cys Leu Thr Ser

180 185 190

Leu Gln Val His Arg Val Ala Arg Arg His Cys Gln Arg Met Asp Thr

195 200 205

Val Thr Met Lys Ala Leu Ala Leu Leu Ala Asp Leu His Pro Ser Val

210 215 220

Arg Gln Arg Cys Leu Ile Gln Gln Lys Arg Arg Arg His Arg Ala Thr

225 230 235 240

Arg Lys Ile Gly Ile Ala Ile Ala Thr Phe Leu Ile Cys Phe Ala Pro

245 250 255

Tyr Val Met Thr Arg Leu Ala Glu Leu Val Pro Phe Val Thr Val Asn

260 265 270

Ala Gln Trp Gly Ile Leu Ser Lys Cys Leu Thr Tyr Ser Lys Ala Val

275 280 285

Ala Asp Pro Phe Thr Tyr Ser Leu Leu Arg Arg Pro Phe Arg Gln Val

290 295 300

Leu Ala Gly Met Val His Arg Leu Leu Lys Arg Thr Pro Arg Pro Ala

305 310 315 320

Ser Thr His Asp Ser Ser Leu Asp Val Ala Gly Met Val His Gln Leu

325 330 335

Leu Lys Arg Thr Pro Arg Pro Ala Ser Thr His Asn Gly Ser Val Asp

340 345 350

Thr Glu Asn Asp Ser Cys Leu Gln Gln Thr His

355 360

<210> 3

<211> 419

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Leu Ala Ala Ala Phe Ala Asp Ser Asn Ser Ser Ser Met Asn Val
1 5 10 15

Ser Phe Ala His Leu His Phe Ala Gly Gly Tyr Leu Pro Ser Asp Ser
20 25 30

Gln Asp Trp Arg Thr Ile Ile Pro Ala Leu Leu Val Ala Val Cys Leu
35 40 45

Val Gly Phe Val Gly Asn Leu Cys Val Ile Gly Ile Leu Leu His Asn
50 55 60

Ala Trp Lys Gly Lys Pro Ser Met Ile His Ser Leu Ile Leu Asn Leu
65 70 75 80

Ser Leu Ala Asp Leu Ser Leu Leu Leu Phe Ser Ala Pro Ile Arg Ala
85 90 95

Thr Ala Tyr Ser Lys Ser Val Trp Asp Leu Gly Trp Phe Val Cys Lys
100 105 110

Ser Ser Asp Trp Phe Ile His Thr Cys Met Ala Ala Lys Ser Leu Thr
115 120 125

Ile Val Val Val Ala Lys Val Cys Phe Met Tyr Ala Ser Asp Pro Ala

130 135 140

Lys Gln Val Ser Ile His Asn Tyr Thr Ile Trp Ser Val Leu Val Ala

145 150 155 160

Ile Trp Thr Val Ala Ser Leu Leu Pro Leu Pro Glu Trp Phe Phe Ser

165 170 175

Thr Ile Arg His His Glu Gly Val Glu Met Cys Leu Val Asp Val Pro

180 185 190

Ala Val Ala Glu Glu Phe Met Ser Met Phe Gly Lys Leu Tyr Pro Leu

195 200 205

Leu Ala Phe Gly Leu Pro Leu Phe Phe Ala Ser Phe Tyr Phe Trp Arg

210 215 220

Ala Tyr Asp Gln Cys Lys Lys Arg Gly Thr Lys Thr Gln Asn Leu Arg

225 230 235 240

Asn Gln Ile Arg Ser Lys Gln Val Thr Val Met Leu Leu Ser Ile Ala

245 250 255

Ile Ile Ser Ala Val Leu Trp Leu Pro Glu Trp Val Ala Trp Leu Trp

260 265 270

Val Trp His Leu Lys Ala Ala Gly Pro Ala Pro Pro Gln Gly Phe Ile
275 280 285

Ala Leu Ser Gln Val Leu Met Phe Ser Ile Ser Ser Ala Asn Pro Leu
290 295 300

Ile Phe Leu Val Met Ser Glu Glu Phe Arg Glu Gly Leu Lys Gly Val
305 310 315 320

Trp Lys Trp Met Ile Thr Lys Lys Pro Pro Thr Val Ser Glu Ser Gln
325 330 335

Glu Thr Pro Ala Gly Asn Ser Glu Gly Leu Pro Asp Lys Val Pro Ser
340 345 350

Pro Glu Ser Pro Ala Ser Ile Pro Glu Lys Glu Lys Pro Ser Ser Pro
355 360 365

Ser Ser Gly Lys Gly Lys Thr Glu Lys Ala Glu Ile Pro Ile Leu Pro
370 375 380

Asp Val Glu Gln Phe Trp His Glu Arg Asp Thr Val Pro Ser Val Gln
385 390 395 400

Asp Asn Asp Pro Ile Pro Trp Glu His Glu Asp Gln Glu Thr Gly Glu

405 410 415

Gly Val Lys

<210> 4

<211> 393

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Glu Thr Thr Met Gly Phe Met Asp Asp Asn Ala Thr Asn Thr Ser
1 5 10 15

Thr Ser Phe Leu Ser Val Leu Asn Pro His Gly Ala His Ala Thr Ser
20 25 30

Phe Pro Phe Asn Phe Ser Tyr Ser Asp Tyr Asp Met Pro Leu Asp Glu
35 40 45

Asp Glu Asp Val Thr Asn Ser Arg Thr Phe Phe Ala Ala Lys Ile Val
50 55 60

Ile Gly Met Ala Leu Val Gly Ile Met Leu Val Cys Gly Ile Gly Asn
65 70 75 80

```
Phe Ile Phe Ile Ala Ala Leu Val Arg Tyr Lys Lys Leu Arg Asn Leu
                85                  90                  95

Thr Asn Leu Leu Ile Ala Asn Leu Ala Ile Ser Asp Phe Leu Val Ala
            100                 105                 110

Ile Val Cys Cys Pro Phe Glu Met Asp Tyr Tyr Val Val Arg Gln Leu
        115                 120                 125

Ser Trp Glu His Gly His Val Leu Cys Thr Ser Val Asn Tyr Leu Arg
    130                 135                 140

Thr Val Ser Leu Tyr Val Ser Thr Asn Ala Leu Leu Ala Ile Ala Ile
145                 150                 155                 160

Asp Arg Tyr Leu Ala Ile Val His Pro Leu Arg Pro Arg Met Lys Cys
                165                 170                 175

Gln Thr Ala Thr Gly Leu Ile Ala Leu Val Trp Thr Val Ser Ile Leu
            180                 185                 190

Ile Ala Ile Pro Ser Ala Tyr Phe Thr Thr Glu Thr Val Leu Val Ile
        195                 200                 205

Val Lys Ser Gln Glu Lys Ile Phe Cys Gly Gln Ile Trp Pro Val Asp
```

```
    210                 215                 220

Gln Gln Leu Tyr Tyr Lys Ser Tyr Phe Leu Phe Ile Phe Gly Ile Glu
225                 230                 235                 240

Phe Val Gly Pro Val Val Thr Met Thr Leu Cys Tyr Ala Arg Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Glu Leu Trp Phe Lys Ala Val Pro Gly Phe Gln Thr Glu Gln Ile
            260                 265                 270

Arg Lys Arg Leu Arg Cys Arg Arg Lys Thr Val Leu Val Leu Met Cys
        275                 280                 285

Ile Leu Thr Ala Tyr Val Leu Cys Trp Ala Pro Phe Tyr Gly Phe Thr
    290                 295                 300

Ile Val Arg Asp Phe Phe Pro Thr Val Phe Val Lys Glu Lys His Tyr
305                 310                 315                 320

Leu Thr Ala Phe Tyr Ile Val Glu Cys Ile Ala Met Ser Asn Ser Met
                325                 330                 335

Ile Asn Thr Leu Cys Phe Val Thr Val Lys Asn Asp Thr Val Lys Tyr
            340                 345                 350
```

Phe Lys Lys Ile Met Leu Leu His Trp Lys Ala Ser Tyr Asn Gly Gly
355 360 365

Lys Ser Ser Ala Asp Leu Asp Leu Lys Thr Ile Gly Met Pro Ala Thr
370 375 380

Glu Glu Val Asp Cys Ile Arg Leu Lys
385 390

<210> 5
<211> 1116
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 5
atgccagcca acttcacaga gggcagcttc gattccagtg ggaccgggca gacgctggat 60
tcttccccag tggcttgcac tgaaacagtg acttttactg aagtggtgga aggaaaggaa 120
tggggttcct tctactactc ctttaagact gagcaattga taactctgtg ggtcctcttt 180
gtttttacca ttgttggaaa ctccgttgtg ctttttttcca catggaggag aaagaagaag 240
tcaagaatga ccttctttgt gactcagctg gccatcacag attctttcac aggactggtc 300
aacatcttga cagatattaa ttggcgattc actggagact tcacggcacc tgacctggtt 360
tgccgagtgg tccgctattt gcaggttgtg ctgctctacg cctctaccta cgtcctggtg 420
tccctcagca tagacagata ccatgccatc gtctacccca tgaagttcct tcaaggagaa 480
aagcaagcca gggtcctcat tgtgatcgcc tggagcctgt cttttctgtt ctccattccc 540
accctgatca tatttgggaa gaggacactg tccaacggtg aagtgcagtg ctgggccctg 600

tggcctgacg actcctactg gaccccatac atgaccatcg tggccttcct ggtgtacttc 660

atccctctga caatcatcag catcatgtat ggcattgtga tccgaactat ttggattaaa 720

agcaaaacct acgaaacagt gatttccaac tgctcagatg ggaaactgtg cagcagctat 780

aaccgaggac tcatctcaaa ggcaaaaatc aaggctatca agtatagcat catcatcatt 840

cttgccttca tctgctgttg gagtccatac ttcctgtttg acattttgga caatttcaac 900

ctccttccag acacccagga gcgtttctat gcctctgtga tcattcagaa cctgccagca 960

ttgaatagtg ccatcaaccc cctcatctac tgtgtcttca gcagctccat ctctttcccc 1020

tgcagggagc aaagatcaca ggattccaga atgacgttcc gggagagaac tgagaggcat 1080

gagatgcaga ttctgtccaa gccagaattc atctag 1116

<210> 6

<211> 1092

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 6

atgggccccg gcgaggcgct gctggcgggt ctcctggtga tggtactggc cgtggcgctg 60

ctatccaacg cactggtgct gctttgttgc gcctacagcg ctgagctccg cactcgagcc 120

tcaggcgtcc tcctggtgaa tctgtctctg ggccacctgc tgctggcggc gctggacatg 180

cccttcacgc tgctcggtgt gatgcgcggg cggacaccgt cggcgcccgg cgcatgccaa 240

gtcattggct tcctggacac cttcctggcg tccaacgcgg cgctgagcgt ggcggcgctg 300

agcgcagacc agtggctggc agtgggcttc ccactgcgct acgccggacg cctgcgaccg 360

cgctatgccg gcctgctgct gggctgtgcc tggggacagt cgctggcctt ctcaggcgct 420

gcacttggct gctcgtggct tggctacagc agcgccttcg cgtcctgttc gctgcgcctg 480

ccgcccgagc ctgagcgtcc gcgcttcgca gccttcaccg ccacgctcca tgccgtgggc 540 ttcgtgctgc cgctggcggt gctctgcctc acctcgctcc aggtgcaccg ggtggcacgc 600

agacactgcc agcgcatgga caccgtcacc atgaaggcgc tcgcgctgct cgccgacctg 660

cacccccagtg tgcggcagcg ctgcctcatc cagcagaagc ggcgccgcca ccgcgccacc 720

aggaagattg gcattgctat tgcgaccttc ctcatctgct ttgccccgta tgtcatgacc 780

aggctggcgg agctcgtgcc cttcgtcacc gtgaacgccc agtggggcat cctcagcaag 840

tgcctgacct acagcaaggc ggtggccgac ccgttcacgt actctctgct ccgccggccg 900

ttccgccaag tcctggccgg catggtgcac cggctgctga agagaacccc gcgcccagca 960

tccacccatg acagctctct ggatgtggcc ggcatggtgc accagctgct gaagagaacc 1020

ccgcgcccag cgtccaccca caacggctct gtggacacag agaatgattc ctgcctgcag 1080

cagacacact ga 1092

<210> 7

<211> 1260

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 7

atgctggcag ctgcctttgc agactctaac tccagcagca tgaatgtgtc ctttgctcac 60

ctccactttg ccggagggta cctgccctct gattcccagg actggagaac catcatcccg 120

gctctcttgg tggctgtctg cctggtgggc ttcgtgggaa acctgtgtgt gattggcatc 180

ctccttcaca atgcttggaa aggaaagcca tccatgatcc actccctgat tctgaatctc 240

agcctggctg atctctccct cctgctgttt tctgcaccta tccgagctac ggcgtactcc 300

aaaagtgttt gggatctagg ctggtttgtc tgcaagtcct ctgactggtt tatccacaca 360

tgcatggcag ccaagagcct gacaatcgtt gtggtggcca aagtatgctt catgtatgca 420

agtgacccag ccaagcaagt gagtatccac aactacacca tctggtcagt gctggtggcc 480 atctggactg tggctagcct gttaccccctg ccggaatggt tctttagcac catcaggcat 540

catgaaggtg tggaaatgtg cctcgtggat gtaccagctg tggctgaaga gtttatgtcg 600

atgtttggta agctctaccc actcctggca tttggccttc cattattttt tgccagcttt 660

tatttctgga gagcttatga ccaatgtaaa aaacgaggaa ctaagactca aaatcttaga 720

aaccagatac gctcaaagca agtcacagtg atgctgctga gcattgccat catctctgct 780

gtcttgtggc tccccgaatg ggtagcttgg ctgtgggtat ggcatctgaa ggctgcaggc 840

ccggccccac cacaaggttt catagccctg tctcaagtct tgatgttttc catctcttca 900

gcaaatcctc tcatttttct tgtgatgtcg gaagagttca gggaaggctt gaaaggtgta 960

tggaaatgga tgataaccaa aaaacctcca actgtctcag agtctcagga aacaccagct 1020

ggcaactcag agggtcttcc tgacaaggtt ccatctccag aatccccagc atccatacca 1080

gaaaaagaga aacccagctc tccctcctct ggcaaaggga aaactgagaa ggcagagatt 1140

cccatccttc ctgacgtaga gcagttttgg catgagaggg acacagtccc ttctgtacag 1200

gacaatgacc ctatcccctg ggaacatgaa gatcaagaga caggggaagg tgttaaatag 1260

<210> 8

<211> 1182

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 8

atggagacca ccatggggtt catggatgac aatgccacca acacttccac cagcttcctt 60

tctgtgctca accctcatgg agcccatgcc acttccttcc cattcaactt cagctacagc 120

gactatgata tgcctttgga tgaagatgag gatgtgacca attccaggac gttctttgct 180

gccaagattg tcattgggat ggccctggtg ggcatcatgc tggtctgcgg cattggaaac 300

ttcatcttta tcgctgccct ggtccgctac aagaaactgc gcaacctcac caacctgctc 300 atcgccaacc tggccatctc tgacttcctg gtggccattg tctgctgccc ctttgagatg 360

gactactatg tggtgcgcca gctctcctgg gagcacggcc acgtcctgtg cacctctgtc 420

aactacctgc gcactgtctc tctctatgtc tccaccaatg ccctgctggc catcgccatt 480

gacaggtatc tggctattgt ccatccgctg agaccacgga tgaagtgcca aacagccact 540

ggcctgattg ccttggtgtg gacggtgtcc atcctgatcg ccatcccttc cgcctacttc 600

accaccgaga cggtcctcgt cattgtcaag agccaggaaa agatcttctg cggccagatc 660

tggcctgtgg accagcagct ctactacaag tcctacttcc tctttatctt tggcatagaa 720

ttcgtgggcc ccgtggtcac catgaccctg tgctatgcca ggatctcccg ggagctctgg 780

ttcaaggcgg tccctggatt ccagacagag cagatccgca agaggctgcg ctgccgcagg 840

aagacggtcc tggtgctcat gtgcatcctc accgcctacg tgctatgctg ggcgcccttc 900

tacggcttca ccatcgtgcg cgacttcttc cccaccgtgt ttgtgaagga gaagcactac 960

ctcactgcct tctacatcgt cgagtgcatc gccatgagca acagcatgat caacactctg 1020

tgcttcgtga ccgtcaagaa cgacaccgtc aagtacttca aaaagatcat gttgctccac 1080

tggaaggctt cttacaatgg cggtaagtcc agtgcagacc tggacctcaa gacaattggg 1140

atgcctgcca ccgaagaggt ggactgcatc agactaaaat aa 1182

<210> 9

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 9
atgccagcca acttcacaga gggcagct 28

<210> 10
<211> 28
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 10
ctagatgaat tctggcttgg acagaatc 28

<210> 11
<211> 28
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 11
atgggccccg gcgaggcgct gctggcgg 28

<210> 12
<211> 28
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 12
tcagtgtgtc tgctgcaggc aggaatca 28

<210> 13
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 13

atgctggcag ctgcctttgc agactctaac 30

<210> 14

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 14

ctatttaaca ccttcccctg tctcttgatc 30

<210> 15

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 15

atggagacca ccatggggtt catggatg 28

<210> 16

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 16

ttattttagt ctgatgcagt ccacctcttc 30

<210> 17

<211> 434

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

Met Glu Asp Leu Phe Ser Pro Ser Ile Leu Pro Pro Ala Pro Asn Ile

1 5 10 15

Ser Val Pro Ile Leu Leu Gly Trp Gly Leu Asn Leu Thr Leu Gly Gln

20 25 30

Gly Ala Pro Ala Ser Gly Pro Pro Ser Arg Arg Val Arg Leu Val Phe

35 40 45

Leu Gly Val Ile Leu Val Val Ala Val Ala Gly Asn Thr Thr Val Leu

50 55 60

Cys Arg Leu Cys Gly Gly Gly Gly Pro Trp Ala Gly Pro Lys Arg Arg

65 70 75 80

Lys Met Asp Phe Leu Leu Val Gln Leu Ala Leu Ala Asp Leu Tyr Ala

85 90 95

Cys Gly Gly Thr Ala Leu Ser Gln Leu Ala Trp Glu Leu Leu Gly Glu

100 105 110

Pro Arg Ala Ala Thr Gly Asp Leu Ala Cys Arg Phe Leu Gln Leu Leu

115 120 125

Gln Ala Ser Gly Arg Gly Ala Ser Ala His Leu Val Val Leu Ile Ala

130 135 140

Leu Glu Arg Arg Arg Ala Val Arg Leu Pro His Gly Arg Pro Leu Pro

145 150 155 160

Ala Arg Ala Leu Ala Ala Leu Gly Trp Leu Leu Ala Leu Leu Leu Ala

165 170 175

Leu Pro Pro Ala Phe Val Val Arg Gly Asp Ser Pro Ser Pro Leu Pro

180 185 190

Pro Pro Pro Pro Pro Thr Ser Leu Gln Pro Gly Ala Pro Pro Ala Ala

195 200 205

Arg Ala Trp Pro Gly Gln Arg Arg Cys His Gly Ile Phe Ala Pro Leu

210 215 220

Pro Arg Trp His Leu Gln Val Tyr Ala Phe Tyr Glu Ala Val Ala Gly

225 230 235 240

Phe Val Ala Pro Val Thr Val Leu Gly Val Ala Cys Gly His Leu Leu

245 250 255

Ser Val Trp Trp Arg His Arg Pro Gln Ala Pro Ala Ala Ala Ala Pro

260 265 270

Trp Ser Ala Ser Pro Gly Arg Ala Pro Ala Pro Ser Ala Leu Pro Arg

275 280 285

Ala Lys Val Gln Ser Leu Lys Met Ser Leu Leu Leu Ala Leu Leu Phe

290 295 300

Val Gly Cys Glu Leu Pro Tyr Phe Ala Ala Arg Leu Ala Ala Ala Trp

305 310 315 320

Ser Ser Gly Pro Ala Gly Asp Trp Glu Gly Glu Gly Leu Ser Ala Ala

325 330 335

Leu Arg Val Val Ala Met Ala Asn Ser Ala Leu Asn Pro Phe Val Tyr

340 345 350

Leu Phe Phe Gln Ala Gly Asp Cys Arg Leu Arg Arg Gln Leu Arg Lys

355 360 365

Arg Leu Gly Ser Leu Cys Cys Ala Pro Gln Gly Gly Ala Glu Asp Glu

370 375 380

Glu Gly Pro Arg Gly His Gln Ala Leu Tyr Arg Gln Arg Trp Pro His

385 390 395 400

Pro His Tyr His His Ala Arg Arg Glu Pro Leu Asp Glu Gly Gly Leu

405 410 415

Arg Pro Pro Pro Pro Arg Pro Arg Pro Leu Pro Cys Ser Cys Glu Ser

420 425 430

Ala Phe

<210> 18

<211> 451

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

Met Glu Ser Ser Pro Ile Pro Gln Ser Ser Gly Asn Ser Ser Thr Leu
1 5 10 15

Gly Arg Val Pro Gln Thr Pro Gly Pro Ser Thr Ala Ser Gly Val Pro
20 25 30

Glu Val Gly Leu Arg Asp Val Ala Ser Glu Ser Val Ala Leu Phe Phe
35 40 45

Met Leu Leu Leu Asp Leu Thr Ala Val Ala Gly Asn Ala Ala Val Met
50 55 60

Ala Val Ile Ala Lys Thr Pro Ala Leu Arg Lys Phe Val Phe Val Phe
65 70 75 80

His Leu Cys Leu Val Asp Leu Leu Ala Ala Leu Thr Leu Met Pro Leu

85 90 95

Ala Met Leu Ser Ser Ser Ala Leu Phe Asp His Ala Leu Phe Gly Glu

100 105 110

Val Ala Cys Arg Leu Tyr Leu Phe Leu Ser Val Cys Phe Val Ser Leu

115 120 125

Ala Ile Leu Ser Val Ser Ala Ile Asn Val Glu Arg Tyr Tyr Tyr Val

130 135 140

Val His Pro Met Arg Tyr Glu Val Arg Met Thr Leu Gly Leu Val Ala

145 150 155 160

Ser Val Leu Val Gly Val Trp Val Lys Ala Leu Ala Met Ala Ser Val

165 170 175

Pro Val Leu Gly Arg Val Ser Trp Glu Glu Gly Ala Pro Ser Val Pro

180 185 190

Pro Gly Cys Ser Leu Gln Trp Ser His Ser Ala Tyr Cys Gln Leu Phe

195 200 205

Val Val Val Phe Ala Val Leu Tyr Phe Leu Leu Pro Leu Leu Leu Ile

210 215 220

Leu Val Val Tyr Cys Ser Met Phe Arg Val Ala Arg Val Ala Ala Met
225 230 235 240

Gln His Gly Pro Leu Pro Thr Trp Met Glu Thr Pro Arg Gln Arg Ser
245 250 255

Glu Ser Leu Ser Ser Arg Ser Thr Met Val Thr Ser Ser Gly Ala Pro
260 265 270

Gln Thr Thr Pro His Arg Thr Phe Gly Gly Gly Lys Ala Ala Val Val
275 280 285

Leu Leu Ala Val Gly Gly Gln Phe Leu Leu Cys Trp Leu Pro Tyr Phe
290 295 300

Ser Phe His Leu Tyr Val Ala Leu Ser Ala Gln Pro Ile Ser Thr Gly
305 310 315 320

Gln Val Glu Ser Val Val Thr Trp Ile Gly Tyr Phe Cys Phe Thr Ser
325 330 335

Asn Pro Phe Phe Tyr Gly Cys Leu Asn Arg Gln Ile Arg Gly Glu Leu
340 345 350

Ser Lys Gln Phe Val Cys Phe Phe Lys Pro Ala Pro Glu Glu Glu Leu
355 360 365

Arg Leu Pro Ser Arg Glu Gly Ser Ile Glu Glu Asn Phe Leu Gln Phe
370 375 380

Leu Gln Gly Thr Gly Cys Pro Ser Glu Ser Trp Val Ser Arg Pro Leu
385 390 395 400

Pro Ser Pro Lys Gln Glu Pro Pro Ala Val Asp Phe Arg Ile Pro Gly
405 410 415

Gln Ile Ala Glu Glu Thr Ser Glu Phe Leu Glu Gln Gln Leu Thr Ser
420 425 430

Asp Ile Ile Met Ser Asp Ser Tyr Leu Arg Pro Ala Ala Ser Pro Arg
435 440 445

Leu Glu Ser
450

<210> 19

<211> 321

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Met Asn Gln Thr Leu Asn Ser Ser Gly Thr Val Glu Ser Ala Leu Asn
1 5 10 15

Tyr Ser Arg Gly Ser Thr Val His Thr Ala Tyr Leu Val Leu Ser Ser
20 25 30

Leu Ala Met Phe Thr Cys Leu Cys Gly Met Ala Gly Asn Ser Met Val
35 40 45

Ile Trp Leu Leu Gly Phe Arg Met His Arg Asn Pro Phe Cys Ile Tyr
50 55 60

Ile Leu Asn Leu Ala Ala Ala Asp Leu Leu Phe Leu Phe Ser Met Ala
65 70 75 80

Ser Thr Leu Ser Leu Glu Thr Gln Pro Leu Val Asn Thr Thr Asp Lys
85 90 95

Val His Glu Leu Met Lys Arg Leu Met Tyr Phe Ala Tyr Thr Val Gly
100 105 110

Leu Ser Leu Leu Thr Ala Ile Ser Thr Gln Arg Cys Leu Ser Val Leu
115 120 125

Phe Pro Ile Trp Phe Lys Cys His Arg Pro Arg His Leu Ser Ala Trp
130 135 140

Val Cys Gly Leu Leu Trp Thr Leu Cys Leu Leu Met Asn Gly Leu Thr
145 150 155 160

Ser Ser Phe Cys Ser Lys Phe Leu Lys Phe Asn Glu Asp Arg Cys Phe
165 170 175

Arg Val Asp Met Val Gln Ala Ala Leu Ile Met Gly Val Leu Thr Pro
180 185 190

Val Met Thr Leu Ser Ser Leu Thr Leu Phe Val Trp Val Arg Arg Ser
195 200 205

Ser Gln Gln Trp Arg Arg Gln Pro Thr Arg Leu Phe Val Val Val Leu
210 215 220

Ala Ser Val Leu Val Phe Leu Ile Cys Ser Leu Pro Leu Ser Ile Tyr
225 230 235 240

Trp Phe Val Leu Tyr Trp Leu Ser Leu Pro Pro Glu Met Gln Val Leu
245 250 255

Cys Phe Ser Leu Ser Arg Leu Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Ala Asn
260 265 270

Pro Val Ile Tyr Phe Leu Val Gly Ser Arg Arg Ser His Arg Leu Pro

275 280 285

Thr Arg Ser Leu Gly Thr Val Leu Gln Gln Ala Leu Arg Glu Glu Pro

290 295 300

Glu Leu Glu Gly Gly Glu Thr Pro Thr Val Gly Thr Asn Glu Met Gly

305 310 315 320

Ala

<210> 20

<211> 333

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

Met Glu Lys Val Asp Met Asn Thr Ser Gln Glu Gln Gly Leu Cys Gln

1 5 10 15

Phe Ser Glu Lys Tyr Lys Gln Val Tyr Leu Ser Leu Ala Tyr Ser Ile

20 25 30

Ile Phe Ile Leu Gly Leu Pro Leu Asn Gly Thr Val Leu Trp His Phe

35 40 45

Trp Gly Gln Thr Lys Arg Trp Ser Cys Ala Thr Thr Tyr Leu Val Asn
50 55 60

Leu Met Val Ala Asp Leu Leu Tyr Val Leu Leu Pro Phe Leu Ile Ile
65 70 75 80

Thr Tyr Ser Leu Asp Asp Arg Trp Pro Phe Gly Glu Leu Leu Cys Lys
85 90 95

Leu Val His Phe Leu Phe Tyr Ile Asn Leu Tyr Gly Ser Ile Leu Leu
100 105 110

Leu Thr Cys Ile Ser Val His Gln Phe Leu Gly Val Cys His Pro Leu
115 120 125

Cys Ser Leu Pro Tyr Arg Thr Arg Arg His Ala Trp Leu Gly Thr Ser
130 135 140

Thr Thr Trp Ala Leu Val Val Leu Gln Leu Leu Pro Thr Leu Ala Phe
145 150 155 160

Ser His Thr Asp Tyr Ile Asn Gly Gln Met Ile Trp Tyr Asp Met Thr
165 170 175

Ser Gln Glu Asn Phe Asp Arg Leu Phe Ala Tyr Gly Ile Val Leu Thr

180 185 190

Leu Ser Gly Phe Leu Ser Leu Leu Gly His Phe Gly Val Leu Phe Thr

195 200 205

Asp Gly Gln Glu Pro Asp Gln Ala Arg Gly Glu Pro His Glu Asp Arg

210 215 220

Gln His Ser Pro Ser Gln Val His Pro Asp His Pro Thr Gly Val Trp

225 230 235 240

Pro Leu His Pro Leu Phe Cys Ala Leu Pro Tyr His Ser Leu Leu Leu

245 250 255

Pro His His Leu Leu Ser Ala Phe Ser Gly Leu Pro Ala Leu Asp Gly

260 265 270

Ser Gln Cys Gly Leu Gln Asp Met Glu Ala Ser Gly Glu Cys Glu Gln

275 280 285

Leu Pro Gln Pro Ser Pro Val Leu Ser Phe Lys Gly Gly Lys Asn Arg

290 295 300

Val Arg Leu Leu Gln Lys Leu Arg Gln Asn Lys Leu Gly Glu His Pro

305 310 315 320

Ala Gly Arg Lys Arg Cys Pro Gly Leu Asn Arg Ser Gly

325 330

<210> 21

<211> 508

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Met Thr Ser Thr Cys Thr Asn Ser Thr Arg Glu Ser Asn Ser Ser His

1 5 10 15

Thr Cys Met Pro Leu Ser Lys Met Pro Ile Ser Leu Ala His Gly Ile

20 25 30

Ile Arg Ser Thr Val Leu Val Ile Phe Leu Ala Ala Ser Phe Val Gly

35 40 45

Asn Ile Val Leu Ala Leu Val Leu Gln Arg Lys Pro Gln Leu Leu Gln

50 55 60

Val Thr Asn Arg Phe Ile Phe Asn Leu Leu Val Thr Asp Leu Leu Gln

65 70 75 80

Ile Ser Leu Val Ala Pro Trp Val Val Ala Thr Ser Val Pro Leu Phe

85 90 95

Trp Pro Leu Asn Ser His Phe Cys Thr Ala Leu Val Ser Leu Thr His

100 105 110

Leu Phe Ala Phe Ala Ser Val Asn Thr Ile Val Val Val Ser Val Asp

115 120 125

Arg Tyr Leu Ser Ile Ile His Pro Leu Ser Tyr Pro Ser Lys Met Thr

130 135 140

Gln Arg Arg Gly Tyr Leu Leu Leu Tyr Gly Thr Trp Ile Val Ala Ile

145 150 155 160

Leu Gln Ser Thr Pro Pro Leu Tyr Gly Trp Gly Gln Ala Ala Phe Asp

165 170 175

Glu Arg Asn Ala Leu Cys Ser Met Ile Trp Gly Ala Ser Pro Ser Tyr

180 185 190

Thr Ile Leu Ser Val Val Ser Phe Ile Val Ile Pro Leu Ile Val Met

195 200 205

Ile Ala Cys Tyr Ser Val Val Phe Cys Ala Ala Arg Arg Gln His Ala

210 215 220

Leu Leu Tyr Asn Val Lys Arg His Ser Leu Glu Val Arg Val Lys Asp

225 230 235 240

Cys Val Glu Asn Glu Asp Glu Glu Gly Ala Glu Lys Lys Glu Glu Phe

245 250 255

Gln Asp Glu Ser Glu Phe Arg Arg Gln His Glu Gly Glu Val Lys Ala

260 265 270

Lys Glu Gly Arg Met Glu Ala Lys Asp Gly Ser Leu Lys Ala Lys Glu

275 280 285

Gly Ser Thr Gly Thr Ser Glu Ser Ser Val Glu Ala Arg Gly Ser Glu

290 295 300

Glu Val Arg Glu Ser Ser Thr Val Ala Ser Asp Gly Ser Met Glu Gly

305 310 315 320

Lys Glu Gly Ser Thr Lys Val Glu Glu Asn Ser Met Lys Ala Asp Lys

325 330 335

Gly Arg Thr Glu Val Asn Gln Cys Ser Ile Asp Leu Gly Glu Asp Asp

340 345 350

Met Glu Phe Gly Glu Asp Asp Ile Asn Phe Ser Glu Asp Asp Val Glu

355 360 365

Ala Val Asn Ile Pro Glu Ser Leu Pro Pro Ser Arg Arg Asn Ser Asn
370 375 380

Ser Asn Pro Pro Leu Pro Arg Cys Tyr Gln Cys Lys Ala Ala Lys Val
385 390 395 400

Ile Phe Ile Ile Ile Phe Ser Tyr Val Leu Ser Leu Gly Pro Tyr Cys
405 410 415

Phe Leu Ala Val Leu Ala Val Trp Val Asp Val Glu Thr Gln Val Pro
420 425 430

Gln Trp Val Ile Thr Ile Ile Ile Trp Leu Phe Phe Leu Gln Cys Cys
435 440 445

Ile His Pro Tyr Val Tyr Gly Tyr Met His Lys Thr Ile Lys Lys Glu
450 455 460

Ile Gln Asp Met Leu Lys Lys Phe Phe Cys Lys Glu Lys Pro Pro Lys
465 470 475 480

Glu Asp Ser His Pro Asp Leu Pro Gly Thr Glu Gly Gly Thr Glu Gly
485 490 495

Lys Ile Val Pro Ser Tyr Asp Ser Ala Thr Phe Pro

500 505

<210> 22

<211> 1305

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 22

atggaggatc tctttagccc ctcaattctg ccgccggcgc ccaacatttc cgtgcccatc 60

ttgctgggct ggggtctcaa cctgaccttg gggcaaggag cccctgcctc tgggccgccc 120

agccgccgcg tccgcctggt gttcctgggg gtcatcctgg tggtggcggt ggcaggcaac 180

accacagtgc tgtgccgcct gtgcggcggc ggcgggccct gggcgggccc caagcgtcgc 240

aagatggact tcctgctggt gcagctggcc ctggcggacc tgtacgcgtg cgggggcacg 300

gcgctgtcac agctggcctg ggaactgctg ggcgagcccc gcgcggccac gggggacctg 360

gcgtgccgct tcctgcagct gctgcaggca tccgggcggg gcgcctcggc ccacctcgtg 420

gtgctcatcg ccctcgagcg ccggcgcgcg gtgcgtcttc cgcacggccg gccgctgccc 480

gcgcgtgccc tcgccgccct gggctggctg ctggcactgc tgctggcgct gcccccggcc 540

ttcgtggtgc gcggggactc cccctcgccg ctgccgccgc cgccgccgcc aacgtccctg 600

cagccaggcg cgcccccggc cgcccgcgcc tggccggggc agcgtcgctg ccacgggatc 660

ttcgcgcccc tgccgcgctg gcacctgcag gtctacgcgt tctacgaggc cgtcgcgggc 720

ttcgtcgcgc ctgttacggt cctgggcgtc gcttgcggcc acctactctc cgtctggtgg 780

cggcaccggc cgcaggcccc cgcggctgca gcgccctggt cggcgagccc aggtcgagcc 840

cctgcgccca gcgcgctgcc ccgcgccaag gtgcagagcc tgaagatgag cctgctgctg 900

gcgctgctgt tcgtgggctg cgagctgccc tactttgccg cccggctggc ggccgcgtgg 960

tcgtccgggc ccgcgggaga ctgggaggga gagggcctgt cggcggcgct gcgcgtggtg 1020

gcgatggcca acagcgctct caatcccttc gtctacctct tcttccaggc gggcgactgc 1080
cggctccggc gacagctgcg gaagcggctg ggctctctgt gctgcgcgcc gcagggaggc 1140
gcggaggacg aggaggggcc ccggggccac caggcgctct accgccaacg ctggccccac 1200
cctcattatc accatgctcg gcgggaaccg ctggacgagg gcggcttgcg cccacccccct 1260
ccgcgcccca gacccctgcc ttgctcctgc gaaagtgcct tctag 1305

<210> 23
<211> 1356
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 23
atggagtcct cacccatccc ccagtcatca gggaactctt ccactttggg gagggtccct 60
caaaccccag gtccctctac tgccagtggg gtcccggagg tggggctacg ggatgttgct 120
tcggaatctg tggccctctt cttcatgctc ctgctggact tgactgctgt ggctggcaat 180
gccgctgtga tggccgtgat cgccaagacg cctgccctcc gaaaatttgt cttcgtcttc 240
cacctctgcc tggtggacct gctggctgcc ctgaccctca tgcccctggc catgctctcc 300
agctctgccc tctttgacca cgccctcttt ggggaggtgg cctgccgcct ctacttgttt 360
ctgagcgtgt gctttgtcag cctggccatc ctctcggtgt cagccatcaa tgtggagcgc 420
tactattacg tagtccaccc catgcgctac gaggtgcgca tgacgctggg gctggtggcc 480
tctgtgctgg tgggtgtgtg ggtgaaggcc ttggccatgg cttctgtgcc agtgttggga 540
agggtctcct gggaggaagg agctcccagt gtccccccag gctgttcact ccagtggagc 600
cacagtgcct actgccagct tttgtggtg gtctttgctg tcctttactt tctgttgccc 660
ctgctcctca tacttgtggt ctactgcagc atgttccgag tggcccgcgt ggctgccatg 720
cagcacgggc cgctgcccac gtggatggag acaccccggc aacgctccga atctctcagc 780

agccgctcca cgatggtcac cagctcgggg gcccccccaga ccacccccaca ccggacgttt 840

gggggaggga aagcagcagt ggttctcctg gctgtggggg gacagttcct gctctgttgg 900

ttgccctact tctctttcca cctctatgtt gccctgagtg ctcagcccat ttcaactggg 960

caggtggaga gtgtggtcac ctggattggc tacttttgct tcacttccaa ccctttcttc 1020

tatggatgtc tcaaccggca gatccggggg gagctcagca agcagtttgt ctgcttcttc 1080

aagccagctc cagaggagga gctgaggctg cctagccggg agggctccat tgaggagaac 1140

ttcctgcagt tccttcaggg gactggctgt ccttctgagt cctgggtttc ccgacccccta 1200

cccagccccca agcaggagcc acctgctgtt gactttcgaa tcccaggcca gatagctgag 1260

gagacctctg agttcctgga gcagcaactc accagcgaca tcatcatgtc agacagctac 1320

ctccgtcctg ccgcctcacc ccggctggag tcatga 1356

<210> 24

<211> 966

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 24

atgaaccaga ctttgaatag cagtgggacc gtggagtcag ccctaaacta ttccagaggg 60

agcacagtgc acacggccta cctggtgctg agctccctgg ccatgttcac ctgcctgtgc 120

gggatggcag gcaacagcat ggtgatctgg ctgctgggct ttcgaatgca caggaacccc 180

ttctgcatct atatcctcaa cctggcggca gccgacctcc tcttcctctt cagcatggct 240

tccacgctca gcctggaaac ccagcccctg gtcaatacca ctgacaaggt ccacgagctg 300

atgaagagac tgatgtactt tgcctacaca gtgggcctga gcctgctgac ggccatcagc 360

acccagcgct gtctctctgt cctcttccct atctggttca agtgtcaccg gcccaggcac 420

ctgtcagcct gggtgtgtgg cctgctgtgg acactctgtc tcctgatgaa cgggttgacc 480 tcttccttct gcagcaagtt cttgaaattc aatgaagatc ggtgcttcag ggtggacatg 540

gtccaggccg ccctcatcat gggggtctta accccagtga tgactctgtc cagcctgacc 600

ctctttgtct gggtgcggag gagctcccag cagtggcggc ggcagcccac acggctgttc 660

gtggtggtcc tggcctctgt cctggtgttc ctcatctgtt ccctgcctct gagcatctac 720

tggtttgtgc tctactggtt gagcctgccg cccgagatgc aggtcctgtg cttcagcttg 780

tcacgcctct cctcgtccgt aagcagcagc gccaaccccg tcatctactt cctggtgggc 840

agccggagga gccacaggct gcccaccagg tccctgggga ctgtgctcca acaggcgctt 900

cgcgaggagc ccgagctgga aggtggggag acgcccaccg tgggcaccaa tgagatgggg 960

gcttga 966

<210> 25

<211> 1002

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 25

atggagaagg tggacatgaa tacatcacag gaacaaggtc tctgccagtt ctcagagaag 60

tacaagcaag tctacctctc cctggcctac agtatcatct ttatcctagg gctgccacta 120

aatggcactg tcttgtggca cttctggggc caaaccaagc gctggagctg tgccaccacc 180

tatctggtga acctgatggt ggccgacctg ctttatgtgc tattgccctt cctcatcatc 240

acctactcac tagatgacag gtggcccttc ggggagctgc tctgcaagct ggtgcacttc 300

ctgttctata tcaaccttta cggcagcatc ctgctgctga cctgcatctc tgtgcaccag 360

ttcctaggtg tgtgccaccc actgtgttcg ctgccctacc ggacccgcag gcatgcctgg 420

ctgggcacca gcaccacctg ggccctggtg gtcctccagc tgctgcccac actggccttc 480

tcccacacgg actacatcaa tggccagatg atctggtatg acatgaccag ccaagagaat 540 tttgatcggc tttttgccta cggcatagtt ctgacattgt ctggctttct ttccctcctt 600

ggtcattttg gtgtgctatt cactgatggt caggagcctg atcaagccag aggagaacct 660

catgaggaca ggcaacacag cccgagccag gtccatccgg accatcctac tggtgtgtgg 720

cctcttcacc ctctgttttg tgcccttcca tatcactcgc tccttctacc tcaccatctg 780

ctttctgctt tctcaggact gccagctctt gatggcagcc agtgtggcct acaagatatg 840

gaggcctctg gtgagtgtga gcagctgcct caacccagtc ctgtactttc tttcaagggg 900

ggcaaaaata gagtcaggct cctccagaaa ctgaggcaga acaagttggg tgagcatcca 960

gctgggagga agagatgccc agggttgaac agatctgggt aa 1002

<210> 26

<211> 1527

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 26

atgacgtcca cctgcaccaa cagcacgcgc gagagtaaca gcagccacac gtgcatgccc 60

ctctccaaaa tgcccatcag cctggcccac ggcatcatcc gctcaaccgt gctggttatc 120

ttcctcgccg cctctttcgt cggcaacata gtgctggcgc tagtgttgca gcgcaagccg 180

cagctgctgc aggtgaccaa ccgttttatc tttaacctcc tcgtcaccga cctgctgcag 240

atttcgctcg tggccccctg ggtggtggcc acctctgtgc ctctcttctg gcccctcaac 300

agccacttct gcacggccct ggttagcctc acccacctgt tcgccttcgc cagcgtcaac 360

accattgtct tggtgtcagt ggatcgctac ttgtccatca tccaccctct ctcctacccg 420

tccaagatga cccagcgccg cggttacctg ctcctctatg gcacctggat tgtggccatc 480

ctgcagagca ctcctccact ctacggctgg ggccaggctg cctttgatga gcgcaatgct 540

ctctgctcca tgatctgggg ggccagcccc agctacacta ttctcagcgt ggtgtccttc 600

atcgtcattc cactgattgt catgattgcc tgctactccg tggtgttctg tgcagcccgg 660
aggcagcatg ctctgctgta caatgtcaag agacacagct tggaagtgcg agtcaaggac 720
tgtgtggaga atgaggatga agagggagca gagaagaagg aggagttcca ggatgagagt 780
gagtttcgcc gccagcatga aggtgaggtc aaggccaagg agggcagaat ggaagccaag 840
gacggcagcc tgaaggccaa ggaaggaagc acggggacca gtgagagtag tgtagaggcc 900
aggggcagcg aggaggtcag agagagcagc acggtggcca gcgacggcag catggagggt 960
aaggaaggca gcaccaaagt tgaggagaac agcatgaagg cagacaaggg tcgcacagag 1020
gtcaaccagt gcagcattga cttgggtgaa gatgacatgg agtttggtga agacgacatc 1080
aatttcagtg aggatgacgt cgaggcagtg aacatcccgg agagcctccc acccagtcgt 1140
cgtaacagca acagcaaccc tcctctgccc aggtgctacc agtgcaaagc tgctaaagtg 1200
atcttcatca tcattttctc ctatgtgcta tccctggggc cctactgctt tttagcagtc 1260
ctggccgtgt gggtggatgt cgaaacccag gtaccccagt gggtgatcac cataatcatc 1320
tggcttttct tcctgcagtg ctgcatccac ccctatgtct atggctacat gcacaagacc 1380
attaagaagg aaatccagga catgctgaag aagttcttct gcaaggaaaa gcccccgaaa 1440
gaagatagcc acccagacct gcccggaaca gagggtggga ctgaaggcaa gattgtccct 1500
tcctacgatt ctgctacttt tccttga 1527

<210> 27

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 27

atggaggatc tctttagccc ctcaattc 28

<210> 28

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 28

ctagaaggca ctttcgcagg agcaaggc 28

<210> 29

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 29

atggagtcct cacccatccc ccagtcatc 29

<210> 30

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 30

tcatgactcc agccggggtg aggcggcag 29

<210> 31

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 31

atgaaccaga ctttgaatag cagtgg 26

<210> 32

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 32

tcaagccccc atctcattgg tgcccacg 28

<210> 33

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 33

atggagaagg tggacatgaa tacatcac 28

<210> 34

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 34

ttacccagat ctgttcaacc ctgggcatc 29

<210> 35

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 35

atgacgtcca cctgcaccaa cagcacgc 28

<210> 36

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 36

tcaaggaaaa gtagcagaat cgtaggaag 29

<210> 37

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 37

ccaggagcgt ttctatgcct 20

<210> 38

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 38

tgtgatcttt gctccctgca 20

<210> 39

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized TaqMan probe sequence

<220>

<221> misc_binding

<222> (1)

<223> Label FAM (6-carboxy-fluorescein)

<220>

<221> misc_binding

<222> (28)

<223> Label TAMRA
(6-carboxy-N,N,N',N'-tetramethylrhodamine)

<400> 39

tcagaacctg ccagcattga atagtgcc 28

<210> 40

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 40

atctgctttg ccccgtatgt 20

<210> 41

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 41

accgccttgc tgtaggtcag 20

<210> 42

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized TaqMan probe sequence

<220>

<221> misc_binding

<222> (1)

<223> Label FAM (6-carboxy-fluorescein)

<220>

<221> misc_binding

<222> (22)

<223> Label TAMRA

(6-carboxy-N,N,N',N'-tetramethylrhodamine)

<400> 42

tcgtgccctt cgtcaccgtg aa 22

<210> 43

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 43

cccagcatcc ataccagaaa a 21

<210> 44
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 44
ctgtgtccct ctcatgccaa a 21

<210> 45
<211> 28
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized TaqMan probe sequence

<220>
<221> misc_binding
<222> (1)

<223> Label FAM (6-carboxy-fluorescein)

<220>

<221> misc_binding

<222> (28)

<223> Label TAMRA

(6-carboxy-N,N,N',N'-tetramethylrhodamine)

<400> 45

tgagaaggca gagattccca tccttcct 28

<210> 46

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially

synthesized primer sequence

<400> 46

tcgccatgag caacagcat 19

<210> 47

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 47

cactggactt accgccattg t 21

<210> 48

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized TaqMan probe sequence

<220>

<221> misc_binding

<222> (1)

<223> Label FAM (6-carboxy-fluorescein)

<220>

<221> misc_binding

<222> (29)

<223> Label TAMRA

(6-carboxy-N,N,N',N'-tetramethylrhodamine)

<400> 48

agatcatgtt gctccactgg aaggcttct 29

<210> 49

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 49

ggatctcttt agcccctcaa ttc 23

<210> 50

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 50

aaggtcaggt tgagacccca g 21

<210> 51

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized TaqMan probe sequence

<220>

<221> misc_binding

<222> (1)

<223> Label FAM (6-carboxy-fluorescein)

<220>

<221> misc_binding

<222> (25)

<223> Label TAMRA

(6-carboxy-N,N,N',N'-tetramethylrhodamine)

<400> 51

aacatttccg tgcccatctt gctgg 25

<210> 52

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially

synthesized primer sequence

<400> 52

gctgttgact ttcgaatccc a 21

<210> 53

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 53

acggaggtag ctgtctgaca tga 23

<210> 54

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized TaqMan probe sequence

<220>

<221> misc_binding

<222> (1)

<223> Label FAM (6-carboxy-fluorescein)

<220>

<221> misc_binding

<222> (26)

<223> Label TAMRA

(6-carboxy-N,N,N',N'-tetramethylrhodamine)

<400> 54

tgagttcctg gagcagcaac tcacca 26

<210> 55

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 55

ggctttcgaa tgcacaggaa 20

<210> 56

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially

synthesized primer sequence

<400> 56
ggaagccatg ctgaagagga 20

<210> 57
<211> 28
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized TaqMan probe sequence

<220>
<221> misc_binding
<222> (1)
<223> Label FAM (6-carboxy-fluorescein)

<220>
<221> misc_binding
<222> (28)
<223> Label TAMRA
(6-carboxy-N,N,N',N'-tetramethylrhodamine)

<400> 57

ttctgcatct atatcctcaa cctggcgg 28

<210> 58

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 58

tggcctcttc accctctgtt t 21

<210> 59

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 59

atcaagagct ggcagtcctg a 21

<210> 60

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized TaqMan probe sequence

<220>

<221> misc_binding

<222> (1)

<223> Label FAM (6-carboxy-fluorescein)

<220>

<221> misc_binding

<222> (30)

<223> Label TAMRA
(6-carboxy-N,N,N',N'-tetramethylrhodamine)

<400> 60

tccatatcac tcgctccttc tacctcacca 30

<210> 61

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 61

ccaaaatgcc catcagcct 19

<210> 62

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 62

gcactatgtt gccgacgaaa 20

<210> 63

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized TaqMan probe sequence

<220>

<221> misc_binding

<222> (1)

<223> Label FAM (6-carboxy-fluorescein)

<220>

<221> misc_binding

<222> (26)

<223> Label TAMRA
(6-carboxy-N,N,N',N'-tetramethylrhodamine)

<400> 63

catccgctca accgtgctgg ttatct 26

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP00/09408

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl^7 C12N15/09, C12N1/15, C12N1/19, C12N1/21, C12N5/10, C07K14/705, C07K16/28, C12P21/02, C12Q1/02, C12Q1/68, A61K31/711, A61K48/00, A61P43/00, G01N33/15, G01N33/50

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl^7 C12N15/00-15/09, C07K14/705

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
GeneBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq
SwissProt/PIR/GeneSeq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 8-245697, A (Takeda Chemical Industries, Ltd.), 24 September, 1996 (24.09.96) (Family: none)	1-15,17
A	WO, 98/46620, A1 (MILLENNIUM PHARM INC), 22 January, 1998 (22.01.98) & AU, 9869736, A & US, 5891720, A & EP, 1007536, A1	1-15,17
A	WO, 99/37679, A1 (MILLENNIUM PHARM INC), 29 July, 1999 (29.07.99) & US, 5945307, A & AU, 9922369, A & EP, 1056777, A1	1-15,17

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search 27 March, 2001 (27.03.01)	Date of mailing of the international search report 10 April, 2001 (10.04.01)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP00/09408

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 16
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

The invention as set forth in claim 16 pertains to methods for diagnosis of diseases and thus relates to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The inventions as set forth in claims 1 to 15 and 17 are divided into groups of 9 individual inventions, i.e., inventions relating to DNAs encoding the amino acids of SEQ ID NOS:1 to 4 and 17 to 21, and DNAs having the sequences of SEQ ID NOS:5 to 8 and 22 to 26. These groups of inventions are not considered as relating to a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Claims 1 to 15 and 17 (inventions relating to the DNA encoding the amino acid sequence of SEQ ID NO:1 and the DNA having the sequence of SEQ ID NO:5)

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

国際調査報告	国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ００／０９４０８

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））
Int.Cl^{7}　Ｃ１２Ｎ１５／０９，Ｃ１２Ｎ１／１５，Ｃ１２Ｎ１／１９，Ｃ１２Ｎ１／２１，Ｃ１２Ｎ５／１０，Ｃ０７Ｋ１４／７０５，Ｃ０７Ｋ１６／２８，Ｃ１２Ｐ２１／０２，Ｃ１２Ｑ１／０２，Ｃ１２Ｑ１／６８，Ａ６１Ｋ３１／７１１，Ａ６１Ｋ４８／００，Ａ６１Ｐ４３／００，Ｇ０１Ｎ３３／１５，Ｇ０１Ｎ３３／５０

Ｂ．　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））
Int.Cl^{7}　Ｃ１２Ｎ１５／００～１５／０９，Ｃ０７Ｋ１４／７０５

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）
ＧｅｎｅＢａｎｋ／ＥＭＢＬ／ＤＤＢＪ／ＧｅｎｅＳｅｑ
ＳｗｉｓｓＰｒｏｔ／ＰＩＲ／ＧｅｎｅＳｅｑ

Ｃ．　関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Ａ	ＪＰ，８－２４５６９７，Ａ（武田薬品工業株式会社）２４．９月．１９９６（２４．０９．９６）（ファミリーなし）	１－１５，１７
Ａ	ＷＯ，９８／４６６２０，Ａ１（MILLENNIUM PHARM INC）２２．１月．１９９８（２２．０１．９８）＆ＡＵ，９８６９７３６，Ａ＆ＵＳ，５８９１７２０，Ａ＆ＥＰ，１００７５３６，Ａ１	１－１５，１７
Ａ	ＷＯ，９９／３７６７９，Ａ１（MILLENNIUM PHARM INC）２９．７月．１９９９（２９．０７．９９）＆ＵＳ，５９４５３０７，Ａ＆ＡＵ，９９２２３６９，Ａ＆ＥＰ，１０５６７７７，Ａ１	１－１５，１７

□ Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。　　□ パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊　引用文献のカテゴリー
「Ａ」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「Ｅ」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「Ｌ」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「Ｏ」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「Ｐ」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
「Ｔ」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「Ｘ」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Ｙ」特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「＆」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
２７．０３．０１	10.04.01

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ）
郵便番号１００－８９１５
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

特許庁審査官（権限のある職員）　４Ｎ　８１１４
鈴木　恵理子
電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４４８

様式ＰＣＴ／ＩＳＡ／２１０（第２ページ）（１９９８年７月）

第Ⅰ欄　請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第１ページの２の続き）

法第８条第３項（ＰＣＴ１７条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲　１６　は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、

請求の範囲１６の発明は、疾病の診断方法に該当し、特許協力条約第１７条（2）(a)（i）及び特許協力条約に基づく規則３９．１（iv）の規定により、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。

2. □ 請求の範囲　＿＿＿＿　は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

3. □ 請求の範囲　＿＿＿＿　は、従属請求の範囲であってＰＣＴ規則6.4(a)の第２文及び第３文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄　発明の単一性が欠如しているときの意見（第１ページの３の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

請求の範囲１－１５，１７に記載された発明は、配列番号１－４，１７－２１のアミノ酸配列をコードするＤＮＡ、または配列番号５－８，２２－２６の配列を有するＤＮＡに係る発明群という、個々の９の発明に区分され、当該発明群が単一の一般的発明概念を形成するように連関している一群の発明であるとは、認められない。

1. □ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。

2. □ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。

3. □ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。

4. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。
請求の範囲１－１５，１７　（配列番号１のアミノ酸配列をコードするＤＮＡ、及び配列番号５の配列を有するＤＮＡに係る部分の発明）

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意
□ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
□ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ BLACK BORDERS

☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

☐ FADED TEXT OR DRAWING

☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

☑ SKEWED/SLANTED IMAGES

☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

☐ GRAY SCALE DOCUMENTS

☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

☐ OTHER: ______________________________

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.
As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.